



Universidad de Murcia

Departamento de Fisiología

Influencia de la diabetes gestacional en el desarrollo
psicomotor y la regulación de los ritmos circadianos
durante el primer año de vida

Dña. Matilde Zornoza Moreno

2014

**ESTA TESIS ES UN COMPENDIO DE TRABAJOS PUBLICADOS EN
REVISTAS INDEXADAS EN BASES DE DATOS INTERNACIONALES DE
RECONOCIDO PRESTIGIO.**

- 1. Assessment of circadian rhythms of both skin temperature and motor activity in infants during the first 6 months of life.**

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Sánchez-Solís M, Rol MA, Larqué E, Madrid JA.

Chronobiol Int. 2011; 28(4): 330–337.

- 2. Influence of gestational diabetes on children's circadian rhythms and their association with fetal adiposity.**

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Prieto Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A, Rol MA, Parrilla JJ, Madrid JA, Sánchez-Solís M, Larqué E.

Diabetes Metab Res Rev. 2013; 29(6): 483–491.

- 3. Is low docosahexaenoic acid associated with disturbed rhythms and neurodevelopment in offspring of diabetic mothers?**

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Carrión V, Alcántara-López MV, Madrid JA, López-Soler C, Sánchez-Solís M, Larqué E.

Eur J Clin Nutr. 2014. [Epub ahead of print].

A mi madre,
que me ha traído hasta aquí.

A Antonio, Gonzalo y Jaime,
los tres hombres de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Este apartado de agradecimientos es el último de todos que escribo, pero también el más complicado y sentimental. Han sido muchas personas las que han estado a mi lado a lo largo de este camino y seguro que alguien olvidaré; de antemano pido mil disculpas.

No se puede concebir un apartado de agradecimientos sin empezar por la familia, la base fundamental de todo en la vida y la que me ha ayudado a llegar hasta aquí. Gracias a mi marido Antonio, por ayudarme a recorrer este largo y duro camino, por aguantar tantas largas noches de trabajo en el sofá, los últimos días llenos de quejas, de idas y venidas; muchísimas gracias por confiar en mí y por el apoyo, sobre todo moral, que tantas y tantas veces necesité y nunca me faltó. A Gonzalo y Jaime, los dos enanitos que han llegado en este tiempo que, aunque ayudar han ayudado poco, me han dado muchas alegrías y mucho ánimo. Espero que los tres estéis algún día orgullosos de mí. A mi madre que, a parte de tener que agradecerle gran parte de lo que soy, me metió en el cuerpo esta gran locura que es hacer una tesis doctoral y siempre ha creído que la terminaría. A mis hermanos, María y Quique, mi padre y el resto de mi familia y amigos, muchas gracias, porque cada uno ha puesto su granito de arena para que esto llegase a buen puerto.

Cuando pensé en hacer la tesis doctoral hablé con mi entonces jefe y ahora director de tesis, Manolo Sánchez-Solís, que me puso en contacto con un par de profesores de la Facultad de Biología (¿De la Facultad de Biología!?, pensé yo), que con el paso del tiempo se han convertido en fundamentales para mí. Juan Antonio Madrid, incesante investigador y una cabeza que jamás deja de pensar; todo lo que sé sobre cronobiología lo he aprendido gracias a ti. Y, cómo no, Elvira Larqué, esa maravillosa persona sin la cual esto nunca habría llegado a ningún sitio, mis ojos y mis manos, la que me ha ayudado, me ha reñido, me ha apoyado y me ha corregido de principio a fin como una “madre científica”, trabajando con la misma ilusión que yo en cada dato obtenido como si fuese suyo propio. Gracias a los tres por ayudarme y guiarme en este gran trabajo.

Gracias a Silvia Fuentes, compañera incansable de fatigas. La vida quiso que, tras acabar el período MIR de formación, nos fuésemos juntas a la peculiar Alhama de Murcia, espero que sea para muchos años. Desde que llegamos como “embriones” de pediatra, ha sido más que una compañera para mí, ha sido un pilar fundamental en la recogida de los niños y es muy culpable de que todo este trabajo haya salido para delante. ¡¡Anda que no nos quedan años de investigar!! También a Puri y Paqui, compañeras de trabajo que, aunque no hayáis participado en nada de esto, me habéis escuchado, me habéis cubierto cuando lo he necesitado y os habéis alegrado de mis buenas noticias. Espero que nos queden muchos años de trabajo juntas, porque es un gusto ir a trabajar con vosotras.

Gracias a “mis” ginecólogos favoritos, Joseli Blanco y, muuuuuuuuuuuuuuy especialmente, a Mariate Prieto, que los conocí porque eran los encargados de la parte ginecológica del estudio y se encargaban del reclutamiento de las madres y han terminado siendo grandes amigos, que han asistido a otra serie de menesteres que no estaban incluidos *a priori* en “sus labores”. Gracias por vuestra ayuda en labores ginecológicas varias. Gracias al Servicio de Psicología Clínica, en especial a Virginia Carrión por su paciencia, que han colaborado con la evaluación psicomotriz de nuestros niños.

Gracias a Juan Antonio Sarabia, mi más sincero agradecimiento por iniciarme en cómo analizar los ritmos circadianos, cuando todo esto era más complejo y “rudimentario” de los que es ahora, y por haberme resuelto muchas dudas logísticas a lo largo de todos estos años. Gracias a Ana Pagán por el análisis de ácidos grasos y tantas otras labores en las que ha colaborado en estos años. Gracias también a todos aquellos chic@s que trabajan en el Departamento de Fisiología, de muchos no sé ni el nombre, pero siempre he encontrado una cara amable cuando he tenido cualquier duda.

Gracias a los verdaderos protagonistas de todo esto, aquellas madres y sus hijos, que, hace ya algunos años, decidieron participar en este estudio de manera desinteresada, que han crecido a nuestro lado (algunos ya tienen 6 años) y, sin saberlo, han contribuido a que sepamos un poco más sobre el “funcionamiento” de los niños.

Gracias, gracias a todos (alguien que seguro que habré olvidado), porque han sido muchos años de largo y duro trabajo y mucha gente encontrada en el camino, pero parece que al final ha merecido la pena.

ÍNDICE

Introducción	1
1. Diabetes mellitus gestacional. Definición, epidemiología y fisiopatología ..	3
2. Diabetes mellitus gestacional. Su relación con los ácidos grasos	4
3. Ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Funciones en el sistema nervioso en desarrollo. Importancia para el feto	7
4. Diabetes mellitus gestacional y neurodesarrollo	11
5. Ritmos circadianos y neurodesarrollo	12
6. Evaluación de los ritmos biológicos	14
6.1. Ritmo de actividad y sueño-vigilia	14
6.2. Ritmo de temperatura corporal	16
7. Alimentación infantil y desarrollo psicomotor	18
Objetivos	21
Material y métodos	25
1. Gestantes participantes en el estudio	27
1.1. Criterios de inclusión y reclutamiento	27
1.2. Diagnóstico de la diabetes gestacional	27
1.3. Seguimiento de la gestación	29
1.4. Toma de muestras de sangre de cordón y análisis	29
2. Niños participantes en el estudio. Protocolo experimental	30
3. Medición de ritmos circadianos	30
3.1. Material de medición	30
3.2. Evaluación de los ritmos circadianos registrados	32
3.2.1. Tests paramétricos	32
A. Método de cosinor	32
B. Test de Rayleigh	33
C. Análisis de Fourier	34
3.2.2. Tests no paramétricos	35
4. Medición clásica del neurodesarrollo. Escala de Bayley de desarrollo infantil II	37

5. Análisis estadístico	38
Capítulos experimentales	41
1. Assessment of circadian rhythms of both skin temperature and motor activity in infants during the first 6 months of life	43
2. Influence of gestational diabetes on children's circadian rhythms and their association with fetal adiposity	44
3. Is low docosahexaenoic acid associated with disturbed rhythms and neurodevelopment in offspring of diabetic mothers?	45
Discusión general	47
1. Maduración de los ritmos circadianos	49
2. Utilidad de los sensores de temperatura periférica y actividad motora en niños menores de un año	52
3. Para el estudio de los ritmos circadianos, ¿son más útiles los tests paramétricos o los no paramétricos?	53
4. Efectos de la diabetes gestacional en la antropometría del niño	54
5. Efectos de la diabetes gestacional en la regulación de ritmos circadianos	57
6. Efectos de la diabetes gestacional en el desarrollo neurológico	59
7. El tipo de alimentación del niño como factor de confusión en el neurodesarrollo	62
8. Efectos de la diabetes gestacional en el perfil de ácidos grasos y su relación con el neurodesarrollo	63
Conclusiones	67
Bibliografía general	71
Anexos	89
1. Anexo I. Producción científica resultante de la presente Tesis Doctoral .	91
2. Anexo II. Producción científica resultante de colaboraciones	92
3. Anexo III. Proyectos financiadores de la presente Tesis Doctoral	93

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AA	Ácido arquidónico
BSID II	Escala de desarrollo infantil de Bayley 2ª edición
CBT	Temperatura corporal central
CFI	Índice de función circadiana
DHA	Ácido docosahexaenoico
EEG	Electroencefalograma
FABP	Proteína de unión de ácidos grasos
FAME	Metil éster de ácido graso
FAT	Traslocasa de ácidos grasos
FATP	Proteína transportadora de ácidos grasos
g	Gramos
GDM	Diabetes mellitus gestacional
h	Horas
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
IMC	Índice de masa corporal
IS	Estabilidad interdiaria
IV	Variabilidad intradiaria
kPa	Kilopascales
L	Litros
L ₅	Valor medio de 5 h consecutivas con valores mínimos de actividad
L ₁₀	Valor medio de 10 h consecutivas con valores mínimos de temperatura

LC-PUFA	Ácido graso poliinsaturado de cadena larga
m	Metros
M ₅	Valor medio de 5 h consecutivas con valores máximos de temperatura
M ₁₀	Valor medio de 10 h consecutivas con valores máximos de actividad
MDI	Índice motor de desarrollo
mg	Miligramos
min	Minutos
ml	Mililitros
mm	Milímetros
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
P ₁ /P _{ultradiano}	Ratio entre potencia del primer armónico del análisis de Fourier y el sumatorio de los armónicos ultradianos
PDI	Índice motor de desarrollo
r	Vector de Rayleigh
RA	Amplitud relativa
SEM	Error estándar de la media
TA	Temperatura-actividad

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

**CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES**

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



INTRODUCCIÓN

1. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL. DEFINICIÓN, EPIDEMIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA

Se define diabetes mellitus gestacional (GDM) como todos aquellos casos de diabetes mellitus que se detectan por primera vez durante el embarazo, debido a una insuficiente adaptación a la insulín-resistencia que se produce en el embarazo, independientemente de la necesidad de tratamiento insulínico, grado del trastorno metabólico o su persistencia una vez finalizado el mismo (American Diabetes Association, 2011; Grupo Español de Diabetes y Embarazo, 2006). En los países occidentales, la GDM es la alteración metabólica más frecuentemente asociada a la gestación, llegando a alcanzar una prevalencia superior al 12% entre las gestantes de nuestro medio (Kuti *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011). El aumento en la incidencia de esta patología ocurre de manera paralela al aumento en las tasas de obesidad (Min *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2011).

La GDM refleja un ambiente fetal alterado, debido a un aporte materno aumentado de carbohidratos, que da lugar a un hiperinsulinismo fetal (Schaefer-Graf *et al.*, 2005). Se caracteriza por un descenso pronunciado de la sensibilidad del organismo a la insulina y una secreción insuficiente de la misma (figura 1), provocando una anormal tolerancia a la glucosa durante el embarazo, lo que da lugar a una hiperglucemia, tanto en la madre como en el feto (González-Quintero *et al.*, 2007). Diversos estudios sugieren que la GDM es un importante factor de riesgo para el feto ya que, la estimulación de tejidos sensibles a la insulina, se ha relacionado con importantes complicaciones en el recién nacido a distintos niveles. Se ha reportado un mayor riesgo de macrosomía y obesidad, tanto infantil como en la edad adulta (García Carrapato, 2003). Este aumento en el riesgo de macrosomía conlleva un aumento en el número de partos distócicos y cesáreas, fracturas, parálisis braquial, distocia de hombros, distrés respiratorio neonatal, ictericia o hipoglucemia y, con menor frecuencia, malformaciones congénitas mayores, todo ello relacionado con un control subóptimo de la glucemia en la madre (González-Quintero *et al.*, 2007; Rizzo *et al.*, 1995 & 1994; Schaefer-Graf *et al.*, 2005; Sells *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 2006). Aunque

habitualmente la GDM desaparece con la finalización de la gestación, las mujeres con historia de GDM y su descendencia tienen un mayor riesgo de desarrollar hipertensión arterial, obesidad, resistencia insulínica y, por tanto, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2 en la edad adulta (Min *et al.*, 2005 & 2004; Rizzo *et al.*, 1995; Schaefer-Graf *et al.*, 2005; Sobngwi *et al.*, 2003; Tobias *et al.*, 2011, Verier-Mine, 2010).

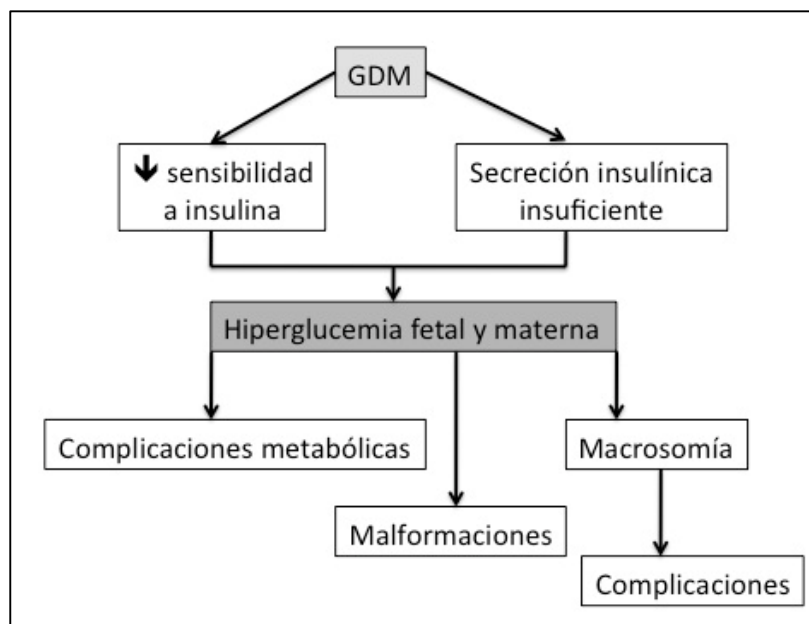


Figura 1. Fisiopatología de las complicaciones de la GDM.

2. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL. SU RELACIÓN CON LOS ÁCIDOS GRASOS

En los hijos de madre con GDM se ha encontrado una reducción de los niveles de ácido docosahexanoico (DHA, 22:6 ω -3) (figura 2) y ω -3 ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA) en plasma y de fosfolípidos en eritrocitos, a pesar de niveles normales o bajos de ácido araquidónico (AA, 20:4 ω -6) (figura 2) y DHA en plasma de la madre (Min *et al.*, 2005 & 2004; Wijendran *et al.*, 2000). Conviene recordar que los LC-PUFA se han correlacionado con el neurodesarrollo infantil (Auestad *et al.*, 2003; Larqué *et al.*, 2002; Voight *et al.*, 2002). La causa de los bajos porcentajes de LC-PUFA en estos niños todavía no es bien conocida (Cheruku *et al.*, 2002; Larqué *et al.*, 2002). Existen diversas teorías que explicarían el porqué, en los embarazos complicados con GDM, los

porcentajes de LC-PUFA en sangre de cordón estén disminuidos; por la alta síntesis de ácidos grasos no esenciales en el feto por la vía *de novo* (principalmente se sintetizarían ácidos grasos saturados y monoinsaturados en el feto a partir de glucosa, los cuales no podrían originar posteriormente ácidos grasos poliinsaturados, dado que la actividad desaturasa es muy baja, tanto en el feto como en la placenta) (Dutta-Roy, 2000), o bien debido a una alteración directa en la transferencia placentaria de LC-PUFA desde la madre, por un anormal funcionamiento de la misma (Larqué *et al.*, 2011).

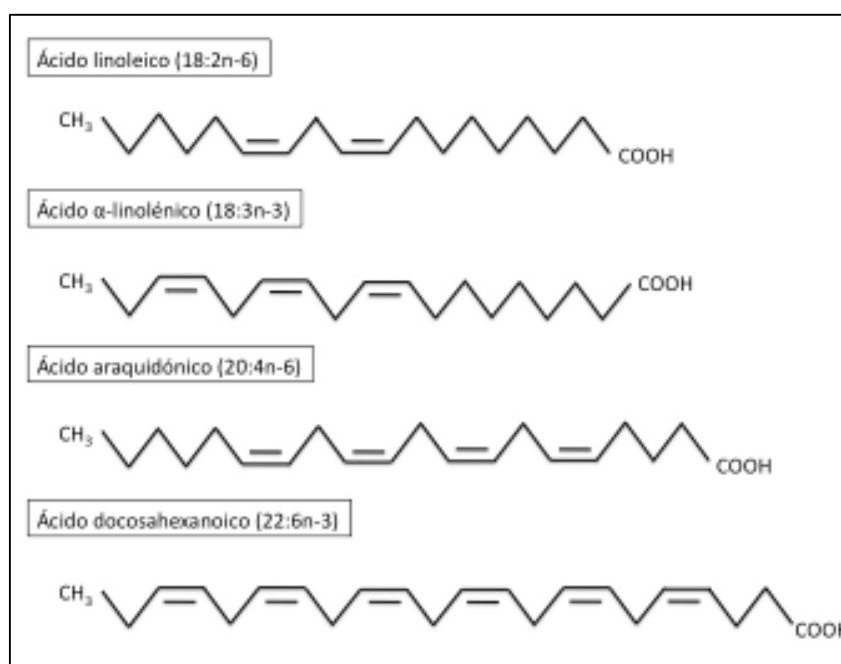


Figura 2. Esquema representativo de los LC-PUFA y sus precursores.

El desarrollo intraútero del feto depende de una correcta alimentación materna y una adecuada transferencia de nutrientes a través de la placenta. Este proceso no se realiza por un proceso de difusión simple, sino que la placenta regula la metabolización de parte de los sustratos y la expresión de proteínas transportadores, para adaptarse a las demandas fetales (Schneider, 1991). Tanto los ácidos grasos esenciales (ácidos linoleico, 18:2 ω -6, y ácido α -linolénico, 18:3 ω -3) (figura 2), como sus metabolitos (LC-PUFAs), obtenidos a través de sucesivas desaturaciones enzimáticas y elongaciones (figura 3) y que no pueden ser sintetizados en suficiente cantidad por el feto, han de ser transferidos por la madre a través de la placenta (Dutta-Roy, 2000; Koletzko *et al.*, 2007; Larqué *et al.*, 2002; Un & Carlson, 2003). Esto se debe a que los humanos no son capaces de sintetizar ácidos grasos con

dobles enlaces en posición 3 o 6 de carbonos terminales y el déficit de actividad desaturasa en la placenta (Un & Carlson, 2003). Después de haber atravesado la placenta, los LC-PUFAs se compartimentan en fracciones lipídicas que quedan atrapadas en la circulación fetal y, por tanto, están disponibles para los tejidos fetales en desarrollo. Este acúmulo fetal depende del estado materno de LC-PUFAs (Coleman, 1989).

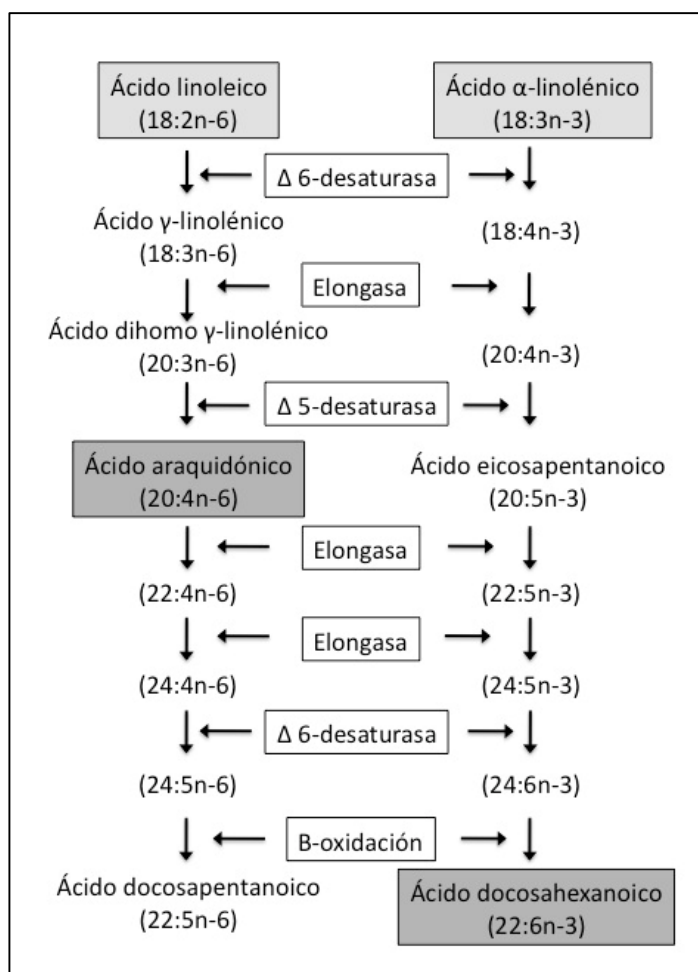


Figura 3. Metabolismo de los ácidos grasos esenciales a LC-PUFA.

La transferencia placentaria de ácidos grasos es un proceso complejo, en el cual se ven involucradas un gran número de proteínas transportadoras, tales como plasma membrane fatty acid binding protein (FABP_{pm}/GOT2), fatty acid traslocase (FAT/CD36), fatty acid transport protein (FATP), compuesta por 6 proteínas diferentes (FATP-1 al 6), o fatty acid binding protein (FABP) (Dutta-Roy, 2008 & 2000; Haggarty *et al.*, 1999). También se ha descrito la presencia de la placentar plasma membrane fatty acid binding protein (p-FABP_{pm}) en la cara materna de las membranas placentarias, aunque aún no ha

sido secuenciada, por lo que se precisa más información sobre la misma (Hanebutt *et al.*, 2008; Koletzko *et al.*, 2007). La mejora en el conocimiento de los mecanismos placentarios subyacentes a la transferencia de ácidos grasos podría mejorar la recomendación dietética sobre los mismos para las madres con GDM durante el embarazo, ya que un aumento en el status materno de n-3 LC-PUFA en la gestación podría mejorar la disponibilidad de éstos en el niño (Larqué *et al.*, 2011).

3. ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS DE CADENA LARGA. FUNCIONES EN EL SISTEMA NERVIOSO EN DESARROLLO. IMPORTANCIA PARA EL FETO

Las etapas más críticas en la formación de la estructura del encéfalo humano, ocurren durante el último trimestre de gestación y continúan hasta los dos años después del nacimiento (Van Houwenlingen *et al.*, 1992). Esta morfogénesis está íntimamente asociada a la función del cerebro y requiere de un extraordinario aporte de LC-PUFA, particularmente de AA y DHA. El feto es capaz de sintetizar, en parte, LC-PUFAs, aunque la mayoría se obtienen a través de la circulación materna. En consecuencia, los efectos adversos de una inadecuada transferencia de LC-PUFA al feto, desde la madre, en este periodo del desarrollo, podrían resultar más difíciles de superar que los ocurridos por una inadecuada ingesta en etapas posteriores (Innis, 2007).

El cerebro humano es un tejido compuesto principalmente por lípidos (hasta en un 60% de su peso seco); de ellos, un 40% son LC-PUFA, y de estos un 15% es DHA y un 10% AA (Dutta-Roy, 2000; Larqué *et al.*, 2002; Lauritzen *et al.*, 2001; Min *et al.*, 2005; Sastry, 1985; Un & Carlson, 2003). Es, además, un órgano con gran número de estructuras con membranas. El AA y el DHA en gran medida ejercen sus funciones metabólicas, formando parte de la estructura de los fosfolípidos de las membranas celulares. Por su alto grado de instauración, los fosfolípidos ricos en LC-PUFA, aportan gran fluidez a las membranas en las que son incorporados. La fluidez de las membranas parece particularmente importante en la formación del tejido nervioso y cerebro (Clandinin *et al.*, 1994; Larqué *et al.*, 2002; Sellmayer *et al.*, 1999), ya que es esencial para que las proteínas

de membrana puedan tener la movilidad que requieren sus funciones, ya sea en la superficie de las membranas o en el interior de la bicapa lipídica.

El DHA presenta, en comparación con otros ácidos grasos esenciales, una distribución tisular más específica en el sistema nervioso central, lo que apoya su importante papel en el desarrollo neuronal y visual de los recién nacido (Hoffman *et al.*, 2000; Lauritzen *et al.*, 2001; Neuringer *et al.*, 2000). Como mencionábamos, el DHA es un componente principal de los fosfolípidos de las membranas celulares, y en el cerebro constituye el 7.2 % de su composición y en retina el 19.7 % (Martínez, 1992; Martínez *et al.*, 1988); dentro de estos, el DHA es particularmente abundante en los bastones de la retina (Anderson, 1970; Van Kuijk *et al.*, 1992) y en la sustancia gris, especialmente en la membrana sináptica (Kishimoto *et al.*, 1969; Neuringer *et al.*, 1988; Soderberg *et al.*, 1991).

La cantidad total de DHA en el cerebro aumenta de forma dramática durante la fase de desarrollo cerebral rápido, desde el principio del tercer trimestre hasta los 18 meses de vida, con un pico alrededor del momento del nacimiento (Dobbing & Sands, 1979; Un & Carlson, 2003), no sólo por el aumento de tamaño cerebral, sino también por un aumento en su concentración relativa (entre las semanas 24 y 40 de gestación se duplica el ratio DHA/AA en la retina). Clandinin *et al.* (1981 & 1980) estimaron que la acumulación prenatal de DHA en el cerebro humano es de aproximadamente 15-22 mg/semana durante el tercer trimestre, lo que señala la importancia de este ácido graso en el desarrollo fetal.

La concentración de DHA en plasma fetal resulta 8-20 veces más efectivo como sustrato para la acumulación de DHA en el cerebro de fetos de babuino que la de su precursor, el ácido α -linolénico (figura 3) (Su *et al.*, 2001). Algunos estudios describen que los recién nacidos prematuros, presentan niveles más bajos de DHA en sangre debido a la interrupción precoz de su transferencia placentaria, que se correlaciona con un funcionamiento anormal de la retina y de las funciones corticales (evaluado mediante electroretinograma, potenciales visuales corticales evocados y test de agudeza visual (Helland *et al.*, 2003; Koletzko *et al.*, 2001; Uauy *et al.*, 2001). Los niños prematuros presentan un deficiente acúmulo de LC-PUFA, habiéndose descrito una mayor relación entre edad gestacional y ω -3 LC-PUFA que con ω -6 LC-PUFA (Helland *et al.*, 2001; Rump *et al.*, 2001). La concentración de AA en prematuros también se ha asociado al peso al

nacimiento y al crecimiento durante el primer año de vida (Koletzko & Braun, 1991; Rump *et al.*, 2001).

Los estudios realizados por diferentes grupos muestran, además, que existe una relación directa entre los niveles de LC-PUFA en eritrocitos (como estimación del estatus nutricional de estos ácidos grasos) y en plasma, con la agudeza visual y la respuesta a potenciales evocados en los lactantes (Birch *et al.*, 1998; Uauy *et al.*, 1999). Algunos investigadores han propuesto que un aporte adecuado de LC-PUFA durante el período perinatal puede tener repercusiones en la inteligencia y el desarrollo intelectual del individuo en la edad adulta, así como una disminución de su morbilidad (Crawford, 2000). También se ha descrito correlación entre los niveles de DHA a los 120 días de vida y las puntuaciones en las distintas escalas de desarrollo psicomotor al año (Voight *et al.*, 2002).

Helland *et al.* (2001) desarrollaron en Noruega un estudio randomizado, doble ciego, controlado con placebo, en mujeres gestantes que recibían desde la semana 17-19 de gestación hasta 3 meses después del parto, 10 ml de aceite de bacalao, que proporcionaba 1g/día de DHA. Los neonatos que presentaban un test electroencefalográfico (EEG) maduro al segundo día de vida, presentaban mayores concentraciones de DHA en los fosfolípidos del plasma umbilical que aquellos neonatos con un EEG inmaduro, a favor de una asociación entre la concentración de DHA y la madurez cerebral del recién nacido (Helland *et al.*, 2001). No obstante, no se observaron diferencias en el resultado EEG a los tres meses, ni en el test de Fagan a los 6 y 9 meses de edad (como indicador de la función cognitiva infantil) (Helland *et al.*, 2001). Sin embargo, a la edad de cuatro años, los niños de las madres que habían recibido aceite de bacalao (ω -3 LC-PUFA) durante el embarazo y la lactancia, presentaban coeficientes de inteligencia superiores, evaluados mediante el test K-ABC (Kaufman Assessment Battery for Children) a los 7 años (Helland *et al.*, 2003). Colombo *et al.* describieron también en un estudio longitudinal, que los niños cuyas madres presentaban al nacimiento niveles superiores de DHA en sus eritrocitos, mostraban durante los dos primeros años de vida más madurez en su perfil de desarrollo y un funcionamiento más óptimo, evaluado por su grado de atención y distraibilidad (Colombo *et al.*, 2004). El efecto de la suplementación con ω -3 LC-PUFA durante el embarazo ha sido recientemente tratado en una revisión sistemática de Larqué *et al.* (2012), concluyendo la existencia de una mejoría en el neurodesarrollo de los hijos y una relación positiva entre los niveles de

DHA maternos y en sangre de cordón y las habilidades cognitivas de los niños. Estos efectos son más evidentes en niños con proporciones bajas de DHA; de ahí la mayor importancia a la identificación de aquellas madres con peores niveles de DHA, ya que se podrían beneficiar de dicha suplementación.

Respecto a estudios epidemiológicos, en el gran estudio de cohortes ALSPAC se registró la frecuencia de consumo de pescado durante el embarazo en 11875 mujeres, relacionada con la ingesta de ω -3 LC-PUFA (Hibbeln *et al.*, 2007). La frecuencia de consumo de pescado se categorizó en tres grupos: no consumo de pescado, consumo de 1-340 g de pescado por semana y consumo de más de 340 g de pescado semanal. El análisis de los resultados reveló, de forma significativa, que los niños cuyas madres habían consumido menos de 340 g de pescado semanal estaban en el cuartil más bajo de inteligencia verbal a la edad de ocho años. También se asoció la baja ingesta de pescado durante el embarazo con resultados subóptimos en habilidades motoras finas y en la puntuación de desarrollo social.

Por último, mencionar que el contenido de DHA en el cerebro del feto y del niño, se ve relativamente más afectado por la dieta materna que el contenido AA, lo que sugiere que la regulación metabólica endógena del contenido de AA es más efectiva (Makrides *et al.*, 1994). Por tanto, aquellos niños nacidos de madre con una dieta deficiente en ácido α -linolénico se encuentran en riesgo de presentar un peor desarrollo neurológico, debido a un depósito subóptimo de DHA.

En resumen, parece que existe una asociación entre el status de DHA en plasma materno o su ingesta durante el embarazo, y el desarrollo de las funciones cognitivas en el neonato y posteriormente en el niño. Debido a las implicaciones del DHA sobre los resultados perinatales, la Comisión Europea elaboró en el 2007 un documento de consenso que recogía, entre otras, las siguientes recomendaciones: durante la gestación y la lactancia, las mujeres deben alcanzar una ingesta mínima de DHA de 200 mg/día; ingestas de hasta 1 g/día de DHA o de hasta 2.7 g/día de ω -3 LCPUFA, han sido usadas en ensayos clínicos randomizados sin efectos adversos significativos; las mujeres en edad fértil deberían consumir una o dos raciones de pescado a la semana, incluyendo pescado azul (Koletzko *et al.*, 2007).

4. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL Y NEURODESARROLLO

Distintos trabajos en los últimos años informan de afectación de distintas áreas del desarrollo psicomotor en hijos de madre con GDM (Georgieff, 2006), asociando una mayor incidencia de discapacidad intelectual (Nomura *et al.*, 2012) y de alteración del comportamiento, con un mayor riesgo de autismo (Krakowiak *et al.*, 2012). De hecho, la existencia de cetoacidosis materna y los niveles de ácidos grasos libres se correlacionan de manera inversa con el cociente intelectual de los niños a los 2 años de edad, medido por distintos tests, como el de Stanford-Binet, Bruininks-Oseretsky o Bayley Scale of Infant Development (Rizzo *et al.*, 1995 & 1991; Sells *et al.*, 1994). En otros trabajos, tests como el de Bayley no fue de utilidad para discriminar entre hijos de madre con GDM y controles, aunque sí encontraron patrones electroencefalográficos de actividad cerebral distintos (Nelson, 2000; Deregnier *et al.*, 2000). La diabetes pregestacional y gestacional parecen tener un efecto adverso en la capacidad de atención y en la función motora de los niños en edad escolar, sin afectar a las habilidades cognitivas (Ornoy *et al.*, 2001). Todos estos efectos se correlacionan de manera inversa con el grado de control de la glucemia materna (González-Quintero *et al.*, 2007; Rizzo *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 2006), aunque no se haya estudiado la asociación entre este deterioro neurológico y el perfil lipídico de los niños a pesar del gran papel que los LC-PUFA tienen en la función cognitiva y visual.

La situación de deficiencia de ω -3 LC-PUFA descrita y la alteración en el perfil de ácidos grasos podría ser, en parte, responsable del retraso de maduración cerebral de los hijos de madre con GDM comparados con controles (Rizzo *et al.*, 1991; Sells *et al.*, 1994), por lo que serían candidatos a un seguimiento estricto a este nivel (Koletzko *et al.*, 2007) pudiendo ser necesaria en estos niños una evaluación completa desde el punto de vista psicomotor y visual (Brinciotti *et al.*, 2007; Deregnier *et al.*, 2000). Un reto a tener en cuenta en la evaluación de los mismos es la necesidad de desarrollar metodologías más precisas que permitan evaluar el desarrollo neurológico durante el primer año de vida. Existen diferentes tests, como el de Brunet-Lézine o el de Bayley, que miden el desarrollo neurológico global de los niños, proporcionándonos índices de habilidades motoras y mentales, respecto a grupos controles. No obstante, hasta el momento actual es incierto qué

tests son los más sensibles para detectar diferencias en los efectos potenciales de los LC-PUFA sobre el desarrollo del sistema nervioso de los niños (Carlson, 2000).

5. RITMOS CIRCADIANOS Y NEURODESARROLLO

Se conoce como ritmos circadiano o ritmos biológicos a la recurrencia de fenómenos dentro de un sistema biológico a intervalos regulares (Mora & Sanguinetti, 2004), son ritmos controlados endógenamente con un período de aproximadamente 24 horas (entre 22 y 26 horas). Notables ejemplos de ritmos circadianos están presentes en la mayoría de fenómenos fisiológicos, como los ciclos de sueño/vigilia, los ciclos de temperatura corporal o de secreción hormonal (Huang *et al.*, 2002; Lack *et al.*, 2008; Mirmiran *et al.*, 2003; Rivkees, 2003; Sarabia *et al.*, 2008; Serón-Ferré *et al.*, 2002). La mayoría de los ritmos circadianos en mamíferos están bajo control de un marcapasos principal, localizado en el núcleo supraquiasmático en el hipotálamo anterior (figura 4), sobre el quiasma óptico en la base del tercer ventrículo (Cermakian & Boivin, 2009; Kennaway, 2002; Peirano *et al.*, 2003; Rivkees, 2003).

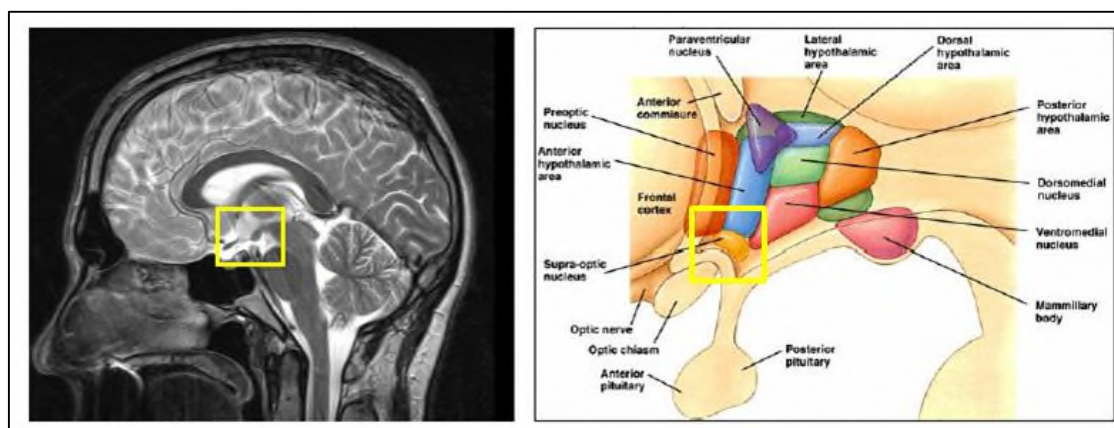


Figura 4. Localización del núcleo supraquiasmático en el hipotálamo anterior.

Las señales exógenas que sincronizan los ritmos circadianos a un período determinado se conocen como zeitgebers o sincronizadores. La información ambiental, principalmente el ciclo luz/oscuridad que se recibe a través de la retina y el tracto retino-

hipotalámico (figura 5), actúa como *zeitgeber*, ajustando tanto el período y como la fase del ritmo de actividad neuronal del núcleo supraquiasmático a 24 horas (Cermakian & Boivin, 2009; McMillen *et al.*, 1991; Peirano *et al.*, 2003; Serón-Ferré *et al.*, 2002). Las vías aferentes al núcleo supraquiasmático, sus células especializadas y vías eferentes se desarrollan en el feto y continúan su maduración en el período neonatal precoz, por lo que son muy vulnerables a agresiones ambientales vía materna (Kennaway, 2002). Existen también varias regiones cerebrales (núcleos hipotalámicos, prosencéfalo, bulbo olfatorio y glándula pineal) y tejidos no nerviosos (hígado, riñón, músculo, tejido adiposo y células sanguíneas) con osciladores circadianos periféricos, modificables por los ritmos de alimentación, temperatura corporal, sueño y actividad física (Cermakian & Boivin, 2009; Haffen, 2009; Mortola, 2007).

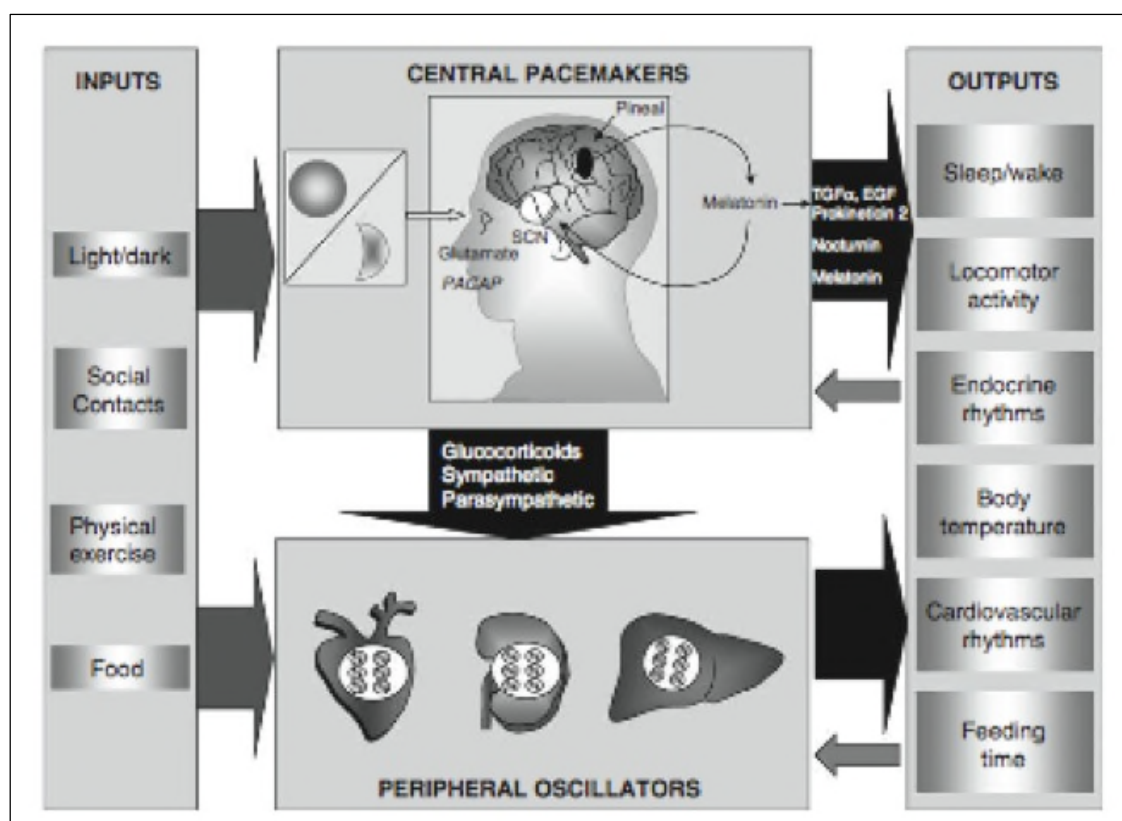


Figura 5. Diagrama general de la organización del sistema circadiano en mamíferos (Garaulet *et al.*, 2010).

La mayoría de estudios previos en la infancia ha mostrado poca o ninguna evidencia de ritmo circadiano al nacimiento, predominando en esta etapa ritmos ultradianos, es decir,

con una periodicidad inferior a 24 horas (Heraghty *et al.*, 2008; Kennaway, 2002; Peirano *et al.*, 2003). La ausencia de ritmicidad es evidente por la falta de sueño consolidado y la ausencia de ritmo en las secreciones hormonales y la temperatura corporal (Kennaway, 2002). El desarrollo de los ritmos de sueño/vigilia o temperatura corporal central (CBT) es uno de los principales cambios fisiológicos que ocurren, de manera gradual, durante el primer año de vida, fundamentalmente entre el primer y tercer mes de vida. Esta evolución coincide con la maduración del sistema nervioso central, por lo que se postula que el sueño y el resto de ritmos circadianos de los niños podrían ser considerados como una ventana al desarrollo neurológico (Kohyama, 1998; Peirano *et al.*, 2003; Rivkees, 2003; Zornoza-Moreno *et al.*, 2011). De hecho, Freudigman y Thoman (1993) describieron que las características del sueño del neonato en el primer día postnatal podían predecir la puntuación de la escala de Bayley a los 6 meses. Diferentes publicaciones a lo largo de los últimos años han mostrado que la organización del ciclo sueño/vigilia en prematuros y niños nacidos a término es un predictor del posterior desarrollo cognitivo (Beckwith & Parmelee, 1986; Borghese *et al.*, 1995; Gertner *et al.*, 2002; Whitney & Thoman, 1993). Otros trabajos correlacionan la media de la actividad motora con índices motores de tests de desarrollo psicomotor como el Bayleys Scale of Infant Development II (BSID II) (Zornoza Moreno *et al.*, 2011). También existen estudios en adultos que demuestran que la fragmentación del ritmo es el parámetro más sensible para detectar los cambios en el ritmo relacionados con la edad (Huang *et al.*, 2002); o que el sueño y su organización circadiana se relaciona de manera significativa con la existencia de deterioro cognitivo, con una fuerte asociación entre la velocidad mental y la fragmentación del ritmo (Oosterman *et al.*, 2009).

6. EVALUACIÓN DE LOS RITMOS BIOLÓGICOS

6. 1. RITMO DE ACTIVIDAD Y SUEÑO-VIGILIA

Respecto al ritmo de sueño/vigilia, hasta ahora había sido estudiado mediante diarios de sueño y estudios polisomnográficos hospitalarios, habiéndose documentado que el sueño nocturno se consolida entre las semanas sexta y decimocuarta de vida (Huang *et al.*, 2002; McMillen *et al.*, 1991). La evidencia de un ritmo circadiano de 24 horas

comienza en la semana 5-6 de vida, cuando el sueño se concentra durante las horas nocturnas y aumentan las horas en que el niño se encuentra despierto durante el día. La consolidación del patrón diurno de sueño-vigilia no se establece claramente hasta la semana 12-14, con un patrón de sueño diurno afianzado en siestas bien definidas (Peirano *et al.*, 2003). McMillen *et al.* (1991), mediante el estudio de diarios de sueño, encontraron que el ritmo circadiano de adaptación al sueño, en un grupo de niños en domicilio, ocurría después de 6-10 semanas del alta, independientemente de que fuesen término o pretérmino.

Las técnicas de actigrafía suponen una nueva metodología para una evaluación sencilla de los ritmos de sueño/vigilia que, además, muestran una ventaja adicional sobre otros métodos de detección de ritmos circadianos, ya que es una técnica no invasiva, que permite el registro continuo en domicilio durante períodos de tiempo prolongados. Esta técnica ha sido validada con métodos de estudio de sueño, como la polisomnografía o los diarios de sueño (So *et al.*, 2007; So *et al.*, 2005). El actímetro (figura 6) es un sensor en miniatura, basado en un acelerómetro bi- o tridireccional, que registra continuamente el movimiento de los miembros superiores en el adulto o los inferiores en el niño, sumando el número e intensidad de dicho movimiento por minuto (Deboer, 2007; Haffen, 2009; Sadeh & Acebo, 2002; So *et al.*, 2007). Las mediciones de actividad se acumulan en una memoria interna, que se descarga posteriormente en un ordenador y, a través del uso de algoritmos matemáticos especiales, se pueden computar los niveles de motilidad y clasificarlos en estados de sueño o vigilia (Deboer, 2007; Sadeh *et al.*, 1995; So *et al.*, 2007). En adultos se describe su uso colocándolos en la muñeca de la mano no dominante, mientras que en niños se coloca en el pie (Deboer, 2007; Haffen, 2009; Sadeh & Acebo, 2002; So *et al.*, 2007; Zornoza-Moreno *et al.*, 2011). Una desventaja de esta técnica es que los niños se mueven también pasivamente, por lo que no siempre es posible excluir estos artefactos de manera fiable (Deboer, 2007).

A.



B.



Figura 6. Diferentes modelos comerciales de actímetros. A. Actiwatch. B. HOBO® Pendant G.

El ritmo sueño/vigilia es altamente no sinusoidal, por lo que distintos autores advierten sobre la idoneidad del uso de variables no paramétricas para caracterizar estos ritmos por medio de la actigrafía, en lugar o junto con el análisis convencional del cosinor (Huang *et al.*, 2002).

6. 2. RITMO DE TEMPERATURA CORPORAL

Por otra parte, durante los primeros meses de vida, también tiene lugar la aparición del ritmo de la temperatura central del niño, que evoluciona en paralelo a la maduración del sistema nervioso. Un niño necesita ir más abrigado durante los primeros días de vida, ya que, cuando nace, no termorregula correctamente. En condiciones experimentales de laboratorio, el ciclo sueño/vigilia guarda una estrecha relación con los cambios en los ritmos circadianos de temperatura. La temperatura central y periférica guardan una estrecha relación inversa entre sí. La temperatura periférica muestra un patrón recíproco de ascenso y descenso que precede, y probablemente induce, el ascenso y descenso respectivo de la temperatura corporal durante el sueño (Brown *et al.*, 1992; Heraghty *et al.*, 2008; Sarabia *et al.*, 2008). La regulación de la temperatura central ocurre como una combinación de producción y pérdida de calor. Los vasos más efectivos para la pérdida rápida de

temperatura son las anastomosis arterio-venosas, que se concentran en las regiones más distales de la piel, es por este motivo que la transferencia aumentada de sangre a regiones cutáneas distales puede ser medida, de manera indirecta, mediante el registro de temperatura cutánea periférica (Lack *et al.*, 2008; Sarabia *et al.*, 2008).

En adultos, el sueño se inicia típicamente con una caída característica de 0.5-0.6°C en la temperatura central entre la primera y la cuarta horas tras el inicio del sueño nocturno, con un mínimo aproximadamente a las 5-6 horas (coincidente con la máxima probabilidad de que el individuo se encuentre dormido), que se sigue de un lento ascenso durante el resto de la noche hasta el momento del despertar (Lack *et al.*, 2008; Lodemore *et al.*, 1992). Este ritmo circadiano de la temperatura central corporal se puede apreciar pronto tras el nacimiento (Brown *et al.*, 1992; Heraghty *et al.*, 2008; Lodemore *et al.*, 1992; Mirmiran *et al.*, 2003; Pringuey *et al.*, 2009; Rivkees, 2003), apareciendo ya a las 6-12 semanas, en niños a término, una caída nocturna de temperatura corporal, la cual es un buen marcador de ritmo circadiano. Lodemore *et al.* (1992) describieron la existencia de un ritmo circadiano de temperatura a las 8 semanas en niños sanos, mientras que otros (como los recién nacidos de bajo peso, los pretérmino o los alimentados con lactancia artificial) no lo desarrollaron hasta las 16 semanas de vida, sin encontrar influencia significativa de factores externos, como la temperatura de la habitación, el aislamiento térmico de la ropa o el hecho de estar arropados.

Desde antes de 1900 ya se llevaron a cabo estudios, como el de Pembrey (1898), sobre la ontogenia del sistema circadiano humano usando la temperatura rectal como medida de la temperatura central, considerada uno de los mejores marcadores del sistema circadiano. Sin embargo, la medición de temperatura rectal no es un método adecuado para largos períodos de tiempo. Otros métodos de medida menos cruentos, como la temperatura timpánica u oral, a veces requieren que el sujeto esté despierto en las tomas (Brown *et al.*, 1992; Lodemore *et al.*, 1992; Sarabia *et al.*, 2008), por lo que tampoco son idóneos para registros de larga duración. Recientemente, la medición de temperatura cutánea periférica a lo largo del día, mediante el uso de sensores específicos (figura 7) colocados en muñeca o tobillo, se ha propuesto como un método fiable de medición en adultos y niños (Areas *et al.*, 2006; Rol *et al.*, 2006; Sarabia *et al.*, 2008; Van Marken Lichtenbelt *et al.*, 2006; Zornoza-Moreno *et al.*, 2011). Estos sensores miden temperatura cutánea y almacenan la

información, que posteriormente se puede descargar, en una memoria interna (Deboer, 2007). Estos dispositivos comienzan a ser de gran interés, ya permiten estudiar los ritmos de temperatura cutánea periférica en niño de manera domiciliaria y la caracterización de los parámetros que mejor los definen.



Figura 7. Sensor de medición de temperatura periférica Termochron iButton®.

7. ALIMENTACIÓN INFANTIL Y DESARROLLO PSICOMOTOR

La influencia de la alimentación infantil en los primeros meses de vida sobre el desarrollo psicomotor ha sido muy estudiada durante los últimos años, pero con resultados muy controvertidos. Existen estudios que describen que niños, tanto fruto de gestaciones normales (Eickmann *et al.*, 2007; Helland *et al.*, 2001, Temboursy *et al.*, 1994), al contrario de aquellos fruto de gestaciones con GDM (Plagemann *et al.*, 2005; Rodekamp *et al.*, 2006), alimentados con lactancia materna tienen un mejor desarrollo psicomotor en los primeros años de vida, en comparación con aquellos alimentados con leche de fórmula. La presencia de los distintos niveles de DHA en la leche materna ha sido sugerida como una explicación a estas diferencias. Otros estudios (Jain *et al.*, 2002; Keim *et al.*, 2012), en cambio, concluyen que no existe suficiente evidencia en este aspecto, lo que atribuyen a limitaciones metodológicas. Debido a esta teoría, hace años se propuso el inicio de la suplementación de las fórmulas infantiles de alimentación con DHA, ya que se comprobó que la suplementación con su precursor, el ácido α -linolénico, de manera exclusiva, sin DHA, no previene el déficit postnatal de DHA (Carlson *et al.*, 1991). Los primeros trabajos se plantearon con niños nacidos de manera prematura, ya que se consideraban grupo de riesgo, por el menor depósito de DHA en el último trimestre de la gestación. Inicialmente

algunos trabajos (Bouwstra *et al.*, 2003; Larqué *et al.*, 2002; Voight *et al.*, 2002) demostraron, en prematuros alimentados con fórmulas suplementadas, una mejora en la agudeza visual y en tests de desarrollo psicomotor al año de vida, mientras que en niños a término los beneficios fueron algo menores. Los beneficios de la suplementación de fórmulas infantiles con LC-PUFA de manera rutinaria en niños a término, tanto en los resultados físicos, visuales y de neurodesarrollo, han sido muy discutidos en estudios de intervención (Auestad *et al.*, 2003), metanálisis (Beyerlein *et al.*, 2010) y revisiones sistemáticas posteriores (Simmer *et al.*, 2008), dado que se postula la existencia de otra serie de factores psicosociales o ambientales implicados, como el nivel socioeconómico y la educación paterna (Plagemann *et al.*, 2005; Temboury *et al.*, 1994), y que estas diferencias, al no mantenerse en edades superiores, se traten efecto transitorio sin importancia.

Recientemente se ha publicado un meta-análisis que ha analizado el efecto de los LC-PUFA en las fórmulas infantiles sobre la agudeza visual en 1949, encontrando un efecto beneficioso de éstos cuando la agudeza visual se midió mediante potenciales evocados durante el primer año de vida (Qawasmi *et al.*, 2013). Sin embargo, estos mismos autores en otro meta-análisis con 1802 niños, incluyendo niños a término y prematuros, no encontraron efectos beneficiosos de los LC-PUFA en fórmulas infantiles sobre la esfera cognitiva, evaluada mediante la escala de Bayley hasta los 16 meses (Qawasmi *et al.*, 2012). No obstante, un estudio de meta-análisis de la Cochrane analizó el efecto de la suplementación con DHA en fórmulas infantiles sobre tests cognitivos sólo en niños prematuros, a pesar de no encontrar diferencias significativas en el índice mental de la escala de Bayley a los 18 meses, casi alcanzó la significación estadística (2.40 [-0.33,5.12]) (Schulzke *et al.*, 2011).

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



OBJETIVOS

El objetivo general de esta tesis doctoral se ha centrado en conocer si el desarrollo cognitivo y psicomotor, así como la regulación de los ritmos circadianos de los niños pueden estar influidos por la presencia de diabetes gestacional materna.

Como objetivos específicos de esta tesis doctoral se han propuesto:

1. Evaluar si los sensores utilizados en adultos para la medición ambulatoria de temperatura y actividad, son útiles como método de registro de la temperatura periférica y actividad motora en niños menores de un año.
2. Describir el perfil de evolución de los ritmos circadianos de temperatura periférica y actividad motora durante el primer año de vida.
3. Evaluar la influencia de la diabetes gestacional materna, tanto tratada con insulina como con dieta, en el neurodesarrollo de sus hijos durante el primer año de vida.
4. Evaluar la influencia de la diabetes gestacional materna, tanto tratada con insulina como con dieta, en la regulación de los ritmos circadianos de sus hijos durante el primer año de vida.
5. Determinar si existe relación entre la maduración de los ritmos circadianos de temperatura periférica y actividad motora con el desarrollo neurológico y psicomotor, evaluado mediante el Bayley Scale of Infant Development II a los 6 y 12 meses de vida del niño.

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



MATERIAL Y MÉTODOS

1. GESTANTES PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO

1. 1. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y RECLUTAMIENTO

Se reclutaron 63 mujeres embarazadas en el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, entre las semanas 28 y 32 de gestación. Del total de gestantes, 23 fueron controles sanas, 21 fueron mujeres diagnosticadas de diabetes gestacional que fueron tratadas sólo con dieta y 19 mujeres diagnosticadas de diabetes gestacional que precisaron insulina para su control. Las pacientes debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- Gestación única.
- Edad entre 18 y 40 años.
- Índice de masa corporal normal (IMC), entre 18.5 y 25%.
- No ser consumidores de suplementos de ácidos grasos ω -3 durante el tercer trimestre de embarazo.

En el momento del reclutamiento, las gestantes firmaron un consentimiento informado, en el cual accedían voluntariamente a que sus hijos fuesen incluidos en el estudio y cumplimentaron un cuestionario dietético para evaluar el consumo de aceite de pescado. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España y siguió los principios de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (Williams, 2008).

1. 2. DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES GESTACIONAL

La GDM se diagnosticó entre la semana 24 y 28 de gestación mediante el cribado universal realizado a todas las mujeres gestantes con el test de O'Sullivan. Éste consiste en la determinación de la glucosa plasmática a la hora de una sobrecarga oral con 50 g de glucosa (O'Sullivan *et al.*, 1973). Se considera un resultado normal un valor de glucosa

menor de 140 mg/dl a la hora de la sobrecarga, por lo que la gestante es clasificada como control. En el caso de que el valor de glucosa a la hora de la sobrecarga fuera mayor de 140 mg/dl, el test es considerado como patológico, por lo que sería necesario realizar una determinación de glucosa venosa durante las 3 h posteriores a una sobrecarga con 100 g de glucosa oral para el diagnóstico definitivo de diabetes gestacional (Shuman *et al.*, 1981). Para diagnosticar a una paciente de diabetes gestacional es necesario que ésta presente dos valores por encima de los puntos de corte establecidos (Basal >105 mg/dl, a la hora de la sobrecarga >190 mg/dl, a las 2 h >165 mg/dl y a las 3 h >145 mg/dl) (figura 8). En el caso de que sólo uno de los valores resultara patológico, habría que repetir la sobrecarga oral de glucosa a las 3-4 semanas.

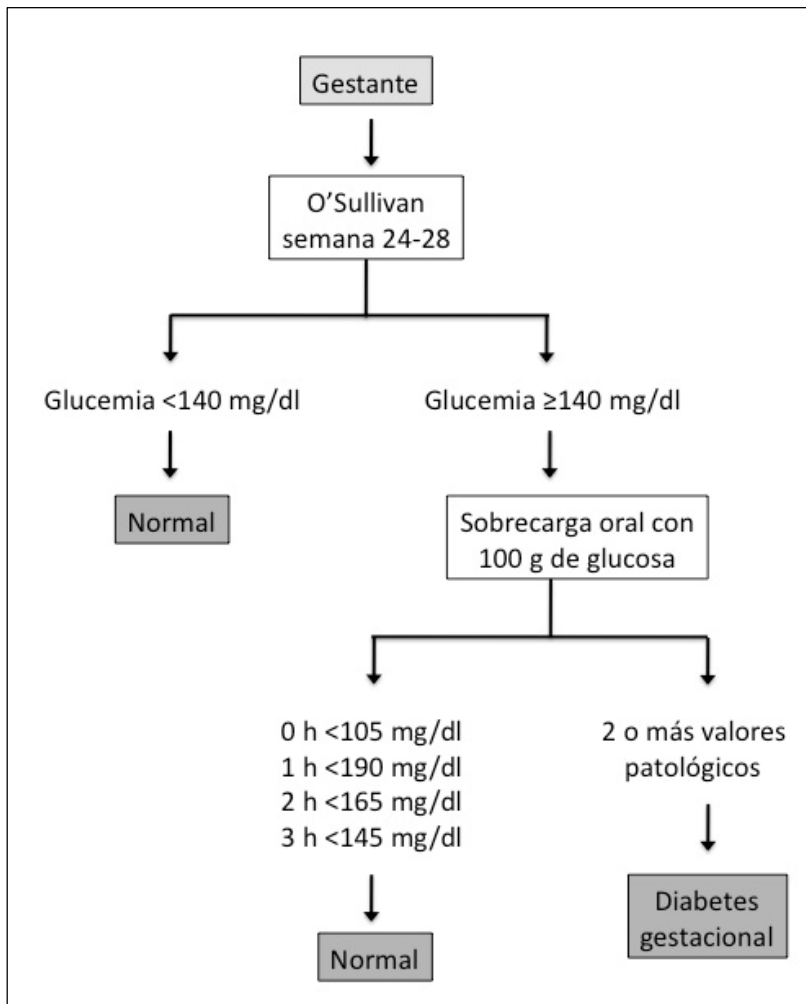


Figura 8. Algoritmo diagnóstico de la diabetes gestacional.

1. 3. SEGUIMIENTO DE LA GESTACIÓN

Durante el embarazo se monitorizó a las gestantes por medio de controles glucémicos y ecográficos, usando la circunferencia abdominal en el momento del reclutamiento (inicio del tercer trimestre) y en el parto como marcador de macrosomía fetal, dado que una velocidad de crecimiento acelerada de este parámetro durante el tercer trimestre de gestación es predictor de un peso al nacimiento mayor que el correspondiente para la edad gestacional (Schaefer-Graf *et al.*, 2011; Tantanasis *et al.*, 2010).

1. 4. TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE DE CORDÓN Y ANÁLISIS

En el momento del parto, se tomaron 2 ml de sangre venosa de cordón en un tubo con EDTA, siendo los tubos centrifugados durante 3 min a 1200 x g para separar el plasma, que fue congelado a -80°C.

Los ácidos grasos se extrajeron de 250 µL de plasma, de acuerdo al método descrito previamente por Folch *et al.* (1957), tras añadir 100 µL de un estándar interno (ácido pentadecanoico (15:0) 2.5 mg/ml). Los metil ésteres de ácidos grasos (FAME) se prepararon con HCl metanólico (3 mol/L) (Supelco, Bellefonte, PA) a 85°C durante 1 h y se disolvieron en hexano. Los FAME se analizaron en un cromatógrafo de gas HP-6890 (Agilent Technologies, Inc. Palo Alto, CA), usando una columna SP-2560 de 60 m x 0.25 mm id x 0.15 µm (Supelco, SIGMA-Aldrich, St. Louis, MO). La temperatura del horno se programó inicialmente a 175°C durante 39 min, incrementándose posteriormente en 3°C por minuto hasta 230°C, temperatura que se mantuvo durante 14 min. El inyector y el detector se programaron a 250°C. Se utilizó helio como gas de transporte a una presión de kPa. Los picos se identificaron por comparación con sus tiempos de retención los estándares apropiados de FAME adquiridos de Sigma Chemical (SIGMA-Aldrich, St. Louis, MO) (Larqué *et al.*, 2003).

2. NIÑOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Los hijos de las gestantes fueron clasificados, de acuerdo al grupo materno durante su estancia en la maternidad del hospital en las primeras 48 h de vida (controles, GDM + dieta y GDM + insulina). La edad gestacional, puntuación del test de Apgar y las medidas antropométricas (peso, longitud e IMC) fueron tomadas en los recién nacidos durante las primeras 48 h de vida. Todos los niños, 34 varones y 29 mujeres, nacieron a término, tuvieron una puntuación normal en el test de Apgar y sus parámetros antropométricos fueron acordes a los de niños sanos españoles nacidos entre las 26 y 42 semanas de gestación (Carrascosa *et al.*, 2008). Para poder realizar la comparación entre los datos de los diferentes grupos, los datos antropométricos se estandarizaron calculando el z-score para el sexo y la edad gestacional.

Se practicó un estudio longitudinal prospectivo, monitorizando la temperatura cutánea a nivel del tobillo y la actividad en los niños durante los 6 primeros meses de vida. Las medidas longitudinales se tomaron a los 15 días, 1, 3 y 6 meses de edad. Para la evaluación de los ritmos circadianos de temperatura y actividad se les proporcionó a los padres un par de calcetines para bebé, los cuales incluían ambos sensores. Cada niño llevó estos calcetines durante 3 días consecutivos en cada ocasión, dado que los estudios publicados previamente abogan por que las mediciones se realicen durante períodos mayores de 48 h (Haffen, 2009; Huang *et al.*, 2002), en su domicilio mientras los padres mantenían su rutina normal de períodos de sueño-vigilia. Para la evaluación del desarrollo psicomotor de los niños, experimentados psicólogos del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca los evaluaron a los 6 y 12 meses (± 15 días) con la Escala BSID II.

3. MEDICIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS

3. 1. MATERIAL DE MEDICIÓN

El sensor Termochron iButton® DS1922L (Dallas, Maxim), previamente validado para la medición de temperatura cutánea en humanos (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010; Sarabia *et*

al., 2008), registró la temperatura cutánea de los niños cada 10 min durante 3 días consecutivos a los 15 días, 1, 3 y 6 meses de edad. El Termochron iButton® está compuesto por un sensor semiconductor de temperatura, a tiempo real, con memoria y batería de litio. Dentro de sus especificaciones técnicas incluye: rango de temperatura de -40 a 85°C, así como una precisión de 0.0625°C. La memoria permite grabar 2048 valores tomados con un intervalo regular de 1 a 255 minutos. La información almacenada se transfirió mediante un adaptador (DS1402D) al ordenador, usando el iButton Viewer software v. 3.22© 1992-2005 Dallas Semiconductor Maxim. En cuanto a la localización de los sensores para la realización del registro, existen estudios previos que han descrito la utilización de los mismos en muñeca para los adultos y en tobillo para bebés (Deboer, 2007; Haffen, 2009; Sadeh & Acebo, 2002; So *et al.*, 2007). En nuestro trabajo se colocaron ambos sensores en unos calcetines especialmente diseñados, que pudiesen ser llevados de manera continua y de una manera segura y cómoda. El sensor de temperatura se situó en un anillo de plástico cosido al calcetín de los bebés, para asegurar el contacto con la cara interna del tobillo izquierdo de los niños sobre la arteria tibial posterior (figura 9). Se seleccionó esta localización ya que los vasos sanguíneos más implicados en la termorregulación son las anastomosis arteriovenosas, que se concentran en las regiones cutáneas distales (Lack *et al.*, 2008).

La actividad motora se determinó, según descripción previa de Ortiz-Tudela *et al.* (2010), a través del sensor HOBO® Pendant G (Massachusetts, Onset), programado para recoger e integrar, cada 2 min, el desplazamiento del sensor. El sensor de actividad se situó dentro del muñeco que el calcetín tiene en la zona del dorso del pie (Zornoza-Moreno *et al.*, 2011) (figura 9), para prevenir que los niños pudieran acceder a los dispositivos. Esta localización ha sido también previamente considerada como idónea en niños por Deboer (2007). La información almacenada se transfirió, tras 3 días consecutivos de medición, mediante una estación base USB U1 y un acoplador Pendant (Massachusetts, Onset) a un ordenador usando el software HOBOWare™ para Windows®. La medición se realizó durante 3 días consecutivos, a la vez que el registro de temperatura.

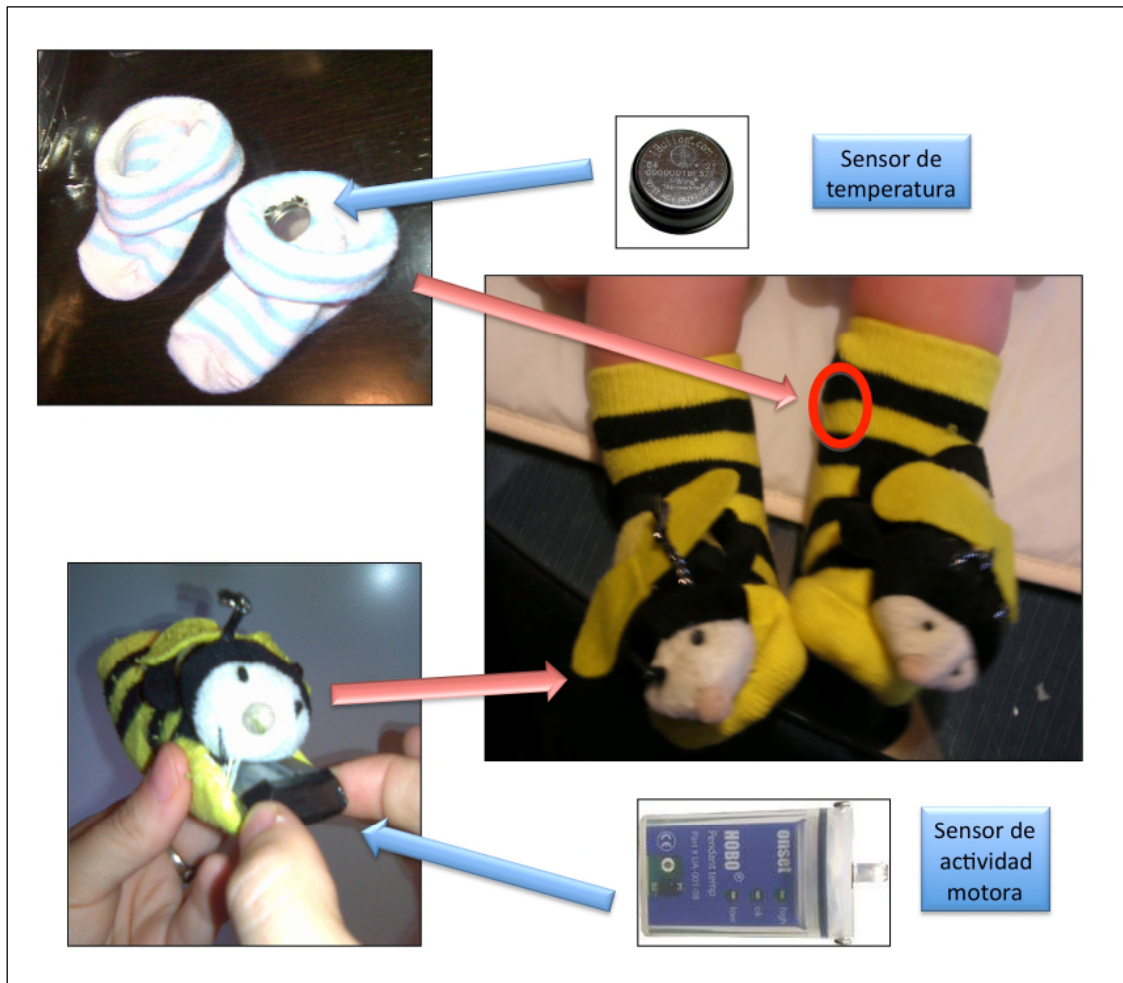


Figura 9. Colocación de los sensores de temperatura y actividad motora en los calcetines de los niños.

3. 2. EVALUACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS REGISTRADOS

3. 2. 1. Tests paramétricos

A. Método de cosinor

Cuando se trata de analizar un ritmo circadiano del que se desconoce su naturaleza, únicamente se puede aceptar que las fluctuaciones de la variable estudiada se repiten con un período de 24 horas, por lo que el modelo matemático más sencillo capaz de explicar el proceso es una función sinusoidal. El método de cosinor (figura 10) es un método de ajuste

de curva por mínimos cuadrados que consiste en ajustar los valores de una variable a una función sinusoidal (coseno) para poder cuantificar las características del ritmo y hacer una representación gráfica del mismo. Este método nos permite calcular una serie de parámetros que definen la función (Díez-Noguera, 2006; Haffen, 2009; McMillen *et al.*, 1991; Portaluppi *et al.*, 2008; So *et al.*, 2007; Zornoza-Moreno *et al.*, 2011) (figura 10):

- Mesor (mean estimated over rhythm). Valor medio alrededor del cual oscila la función sinusoidal.
- Acrofase. Hora a la cual se produce el valor máximo ajustado a la curva del coseno.
- Amplitud. Diferencia entre el mesor y el pico máximo o mínimo de la onda de los datos ajustados.

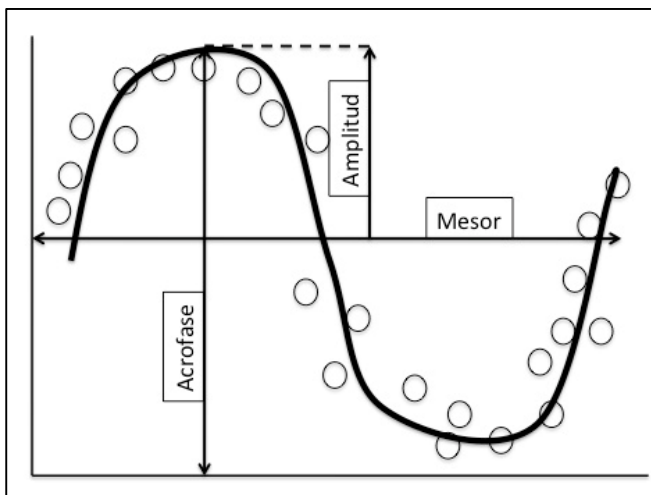


Figura 10. Representación gráfica del método de cosinor.

B. Test de Rayleigh

Se trata de un método para verificar la existencia de alguna tendencia temporal en el conjunto de datos. Este test proporciona un vector (r), cuyo origen se encuentra en el centro de una circunferencia de radio 1. La longitud del vector r (figura 11), entre 0 y 1, es proporcional al grado de homogeneidad de la fase durante el período analizado y puede ser considerado como una medida de la estabilidad del ritmo durante días sucesivos (Zornoza-Moreno *et al.*, 2011).

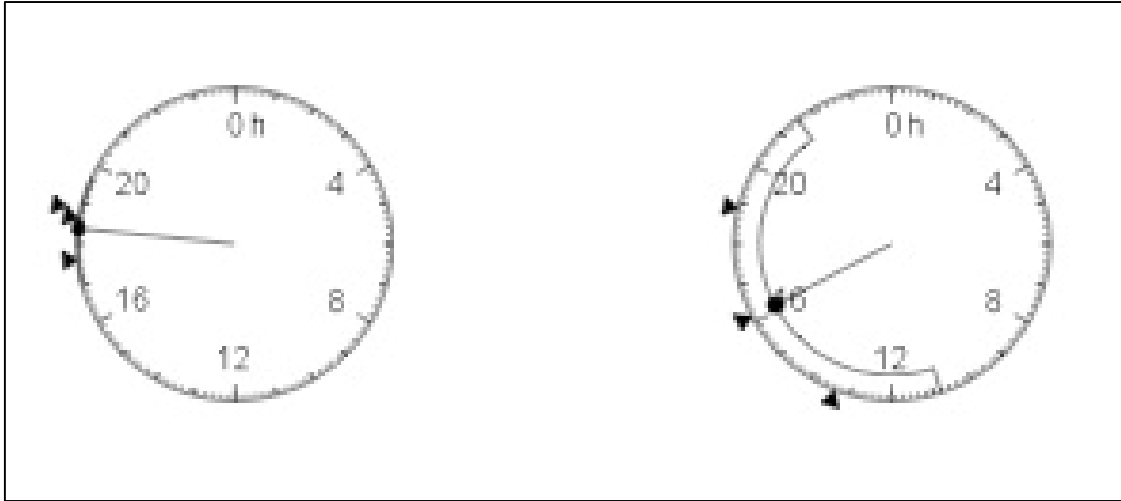


Figura 11. Representación gráfica del test de Rayleigh. En la imagen de la izquierda, al estar los datos más agrupados, el vector r es mayor; mientras que, en la imagen de la derecha, el vector r es menor, ya que los datos se encuentran más dispersos. Los triángulos indican la acrofase de cada uno de los días analizados y la media de los mismos.

C. Análisis de Fourier

Es un procedimiento matemático para la determinación de la periodicidad en series temporales con puntos a igual distancia, que se propuso ya que, en muchas series temporales, es frecuente que el cosinor no explique más de un 40% de la variación total; en estos casos el análisis de Fourier lograría un mejor ajuste de los datos. Se basa en la factorización de una serie de datos en componentes periódicos descritos por una función cosenoidal (Díez-Noguera, 2006). Cada componente del coseno se denomina armónico (figura 12). En el estudio de ritmos circadianos en humanos se ha postulado el uso de 12 armónicos, con períodos entre 24 y 2 horas. Esto último es debido a que el ritmo de los recién nacidos y lactantes pequeños es ultradiano, con unos ritmos de alimentación de hasta aproximadamente cada 2 horas (Zornoza-Moreno *et al.*, 2011).

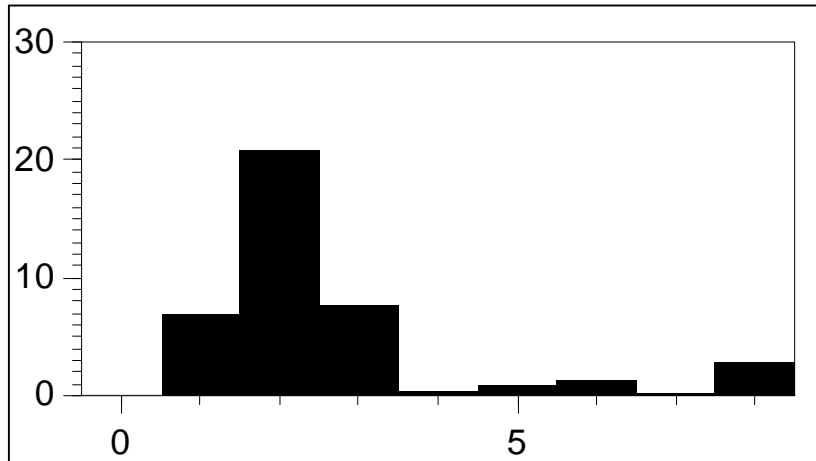


Figura 12. Representación gráfica de un análisis de Fourier con ocho armónicos (representados en el eje “x”), mientras que en el eje “y” se muestra la potencia de cada uno de los armónicos.

3. 2. 2. Análisis no paramétricos

Dado que muchos ritmos circadianos en humanos no son estrictamente sinusoidales, se han propuesto otros procedimientos, basados en técnicas no paramétricas (Carvalho- Bos *et al.*, 2007; Portaluppi *et al.*, 2008; Van Someren *et al.*, 1999; Zornoza-Moreno *et al.*, 2011), demostrándose una mayor sensibilidad de éstos con respecto a los análisis paramétricos para definir los ritmos circadianos en niños (Zornoza Moreno *et al.*, 2011). De este tipo de análisis se obtienen los siguientes parámetros:

- Estabilidad interdiaria del ritmo (IS). Cuantifica la similitud entre los diferentes ciclos de 24 horas, es decir, la regularidad del patrón circadiano día a día. Es el valor del Chi cuadrado del periodograma de 24 horas normalizado según el número de datos, que puede ser fácilmente calculado como la proporción entre la varianza de la media de un patrón de 24 horas y la varianza global (Van Someren *et al.*, 1999).
- Variabilidad intradiaria (IV). Cuantifica la fragmentación del ritmo, es decir, la frecuencia y la extensión de las transiciones entre períodos de valores altos y bajos de la variable dentro de cada día. Se calcula como el ratio entre los cuadrados medios de la diferencia entre las sucesivas horas (primera derivada) y los

- cuadrados medios de la media global (varianza global) (Van Someren *et al.*, 1999).
- El valor de M_5 es el valor medio de las cinco horas consecutivas en la que se producen los valores máximos de temperatura, es el equivalente no paramétrico de la acrofase. En cuanto a la actividad y el sueño, el cálculo del parámetro cambia y se determina el valor de M_{10} , que es el valor medio de las diez horas consecutivas en las que se producen los valores máximos del parámetro (Van Someren *et al.*, 1999). También es posible calcular el tiempo de M_5 y de M_{10} , que es la hora a la que se producen esos valores.
 - El valor de L_{10} es el valor medio de las diez horas consecutivas en la que se producen los valores mínimos de temperatura. En cuanto a la actividad y el sueño, el cálculo del parámetro cambia y se determina el valor de L_5 , que es el valor medio de las cinco horas consecutivas en las que se producen los valores mínimos del parámetro (Van Someren *et al.*, 1999). Al igual que en el punto anterior, es posible calcular el tiempo de L_{10} y de L_5 , que es la hora a la que se producen esos valores (Van Someren *et al.*, 1999).
 - Amplitud relativa (RA). Se conoce como la diferencia entre M_5 y L_{10} en la temperatura, así como M_{10} y L_5 en la actividad y el sueño (Van Someren *et al.*, 1999).
 - Índice dicotómico I<O. Se utiliza para determinar la concordancia del período de sueño nocturno de los niños con el período estándar de sueño. El valor de este índice puede variar desde 0% a 100%, considerándose el 100% cuando el período de sueño nocturno del niño coincide de manera completa con el período estándar de sueño, definido entre las 23.00 y las 07.00 horas (Minors *et al.*, 1996).
 - Variable integrada TA (temperatura-actividad). Se calcula para minimizar los artefactos asociados a las mediciones de temperatura y actividad. Para su obtención se normalizan las medidas de temperatura y actividad. Considerando que la máxima temperatura periférica ocurre de noche, cuando el sujeto se encuentra dormido, y los valores mínimos durante el día, cuando el individuo está despierto (Sarabia *et al.*, 2008), y que en la actividad motora ocurre al contrario, se invierten los valores de temperatura. Finalmente se calcula la media de las dos

variables normalizadas (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010). Los parámetros de sueño se estiman a través de la integración de la variable TA.

- Índice de función circadiana (CFI). Este índice se utiliza para poder clasificar a los individuos de acuerdo a su estado de función circadiana, según describieron Ortiz-Tudela *et al.* (2010). Este índice incorpora los parámetros IV, IS y RA, calculados de la variable TA. Sus valores oscilan entre 0, que indica ausencia de ritmo circadiano, y 1, un ritmo circadiano robusto (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

4. MEDICIÓN CLÁSICA DEL NEURODESARROLLO. ESCALA DE BAYLEY DE DESARROLLO INFANTIL II

La Escala de Bayley de Desarrollo Infantil 2ª edición es un instrumento de administración individual que evalúa el curso del desarrollo psicomotor en lactantes y niños, desde 1 a 42 meses de edad. Diagnostica retraso en el desarrollo y orienta en la planificación de una posible intervención. Esta escala se compone de dos subescalas, una parte de evaluación mental, de la que deriva el índice de desarrollo mental (MDI), y otra de evaluación motora, de la que deriva el índice de desarrollo psicomotor (PDI). Ambas subescalas se consideran complementarias. Para cada nivel de edad están designados unos 25 elementos aproximadamente, con un considerable solapamiento entre edades. Dependiendo de la edad y el nivel de desarrollo del niño, se utiliza un conjunto adecuado a la edad (figura 13), con unos ítems de inicio y finalización establecidos. La mayoría de los ítems consisten en la realización de tareas, que se puntúan de manera dicotómica. Cada una de las subescalas tiene una puntuación media de 100 con una desviación estándar de 15. Niños con una puntuación <70, es decir, 2 desviaciones estándar por debajo de la media, se clasifican como un retraso significativo.

La escala mental consta de 178 ítems de dificultad creciente y evalúa distintos tipos de habilidades, tales como habilidades sensoriales y perceptivas, discriminación y respuesta, adquisición de constancia de objetos, memoria de aprendizaje y resolución de problemas, vocalización e inicio de comunicación verbal, habituación, clasificación, habilidades sociales, lenguaje complejo y formación de conceptos matemáticos o precálculo.

La escala motora consta de 111 ítems de dificultad creciente y evalúa el grado de control corporal, coordinación muscular gruesa, a través de pruebas como rodar, gatear, trepar, sentarse, ponerse de pie, caminar, correr y saltar, y habilidades de manipulación fina, como coordinación mano-ojo o uso adaptativo a implementos de escritura, movimiento dinámico, imitación postural y la habilidad de reconocimiento de objetos por el tacto (Bayley, 1993).



Figura 13. Material necesario para la realización de BSID II.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de temperatura fueron filtrados inicialmente usando un procedimiento automático de eliminación de datos para la eliminación de artefactos, tales como aquellos producidos por la retirada de los sensores en el momento del baño (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010). Todas aquellas caídas o elevaciones de datos de más de 3 veces la desviación estándar de la media fueron eliminados, esto es debido a que $\text{media} \pm 3$ desviaciones estándar corresponden al 99.7% de los datos de una distribución normal. Para analizar el grado de concordancia entre el período nocturno de descanso de los padres y de los niños se consideró como período estándar de sueño desde las 23:00 h hasta las 07:00 h. Se aplicaron tanto tests paramétricos como no paramétricos para caracterizar los ritmos de temperatura y

actividad motora. Para calcular los test no paramétricos de ambos ritmos se utilizó el software “CircadianwareTM” v7.1.1 (Campos *et al.*, 2010).

Los resultados se expresaron como la media \pm error estándar de la media (SEM). Para realizar el análisis estadístico de los parámetros antropométricos en las distintas medidas temporales (15 días, 1, 3 y 6 meses) se realizó un modelo general lineal para medidas repetidas, seguido de un test *t* múltiple *post hoc* de Bonferroni. Se realizó también ANOVA de doble vía, para la comparación entre grupos con respecto a las distintas medidas temporales, proporcionando niveles de significación para la condición diabetes, tiempo y el efecto de interacción entre diabetes y tiempo. Para aquellas variables que no seguían una distribución normal, como las derivadas del BSID II, se utilizaron los test de Kruskal-Wallis y el test de la U de Mann-Whitney. Todos los análisis se realizaron usando el paquete estadístico SPSS 16.0 (SPSS, Chicago, Illinois).

El tamaño mínimo de muestra para detectar un efecto en el perfil de ácidos grasos de sangre de cordón (error tipo I $\alpha = 0.05$ y error tipo II $\beta = 0.2$, potencia 80%) se estimó en 20 niños por grupo, basado en una diferencia $\geq 20\%$ entre los grupos en los valores medios de las principales variables resultado (principales ácidos grasos en plasma, ácidos oleico y linoleico) y en las variables previamente obtenidas en el análisis de ácidos grasos en plasma en niños medidos por cromatografía gas-líquido.

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

**CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES**

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



CAPÍTULOS EXPERIMENTALES

1. ASSESSMENT OF CIRCADIAN RHYTHMS OF BOTH SKIN TEMPERATURE AND MOTOR ACTIVITY IN INFANTS DURING THE FIRST 6 MONTHS OF LIFE

CHRONOBIOLOGY INTERNATIONAL

<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.3109/07420528.2011.565895>

The authors developed a method useful for home measurement of temperature, activity, and sleep rhythms in infants under normal-living conditions during their first 6 mos of life. In addition, parametric and nonparametric tests for assessing circadian system maturation in these infants were compared. Anthropometric parameters plus ankle skin temperature and activity were evaluated in 10 infants by means of two data loggers, Termochron iButton (DS1291H, Maxim Integrated Products, Sunnyvale, CA) for temperature and HOBO Pendant G (Hobo Pendant G Acceleration, UA-004-64, Onset Computer Corporation, Bourne, MA) for motor activity, located in special baby socks specifically designed for the study. Skin temperature and motor activity were recorded over 3 consecutive days at 15 days, 1, 3, and 6 mos of age. Circadian rhythms of skin temperature and motor activity appeared at 3 mos in most babies. Mean skin temperature decreased significantly by 3 mos of life relative to previous measurements ($p = .0001$), whereas mean activity continued to increase during the first 6 mos. For most of the parameters analyzed, statistically significant changes occurred at 3–6 mos relative to 0.5–1 mo of age. Major differences were found using nonparametric tests. Intradaily variability in motor activity decreased significantly at 6 mos of age relative to previous measurements, and followed a similar trend for temperature; interdaily stability increased significantly at 6 mos of age relative to previous measurements for both variables; relative amplitude increased significantly at 6 mos for temperature and at 3 mos for activity, both with respect to previous measurements. A high degree of correlation was found between

chronobiological parametric and nonparametric tests for mean and mesor and also for relative amplitude versus the cosinor-derived amplitude. However, the correlation between parametric and nonparametric equivalent indices (acrophase and midpoint of M_5 , interdaily stability and Rayleigh test, or intradaily variability and $P_1/P_{\text{ultradian}}$) despite being significant, was lower for both temperature and activity. The circadian function index (CFI index), based on the integrated variable temperature-activity, increased gradually with age and was statistically significant at 6 mos of age. At 6 mos, 90% of the infants' rest period coincided with the standard sleep period of their parents, defined from 23:00 to 07:00 h (dichotomic index $I < O$; when $I < O = 100\%$, there is a complete coincidence between infant nocturnal rest period and the standard rest period), whereas at 15 days of life the coincidence was only 75%. The combination of thermometry and actimetry using data loggers placed in infants' socks is a reliable method for assessing both variables and also sleep rhythms in infants under ambulatory conditions, with minimal disturbance. Using this methodological approach, circadian rhythms of skin temperature and motor activity appeared by 3 mos in most babies. Nonparametric tests provided more reliable information than cosinor analysis for circadian rhythm assessment in infants.

2. INFLUENCE OF GESTATIONAL DIABETES ON CIRCADIAN RHYTHMS OF CHILDREN AND THEIR ASSOCIATION WITH FETAL ADIPOSITY

DIABETES/METABOLISM RESEARCH AND REVIEWS

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dmrr.2417/abstract;jsessionid=64B7DA4D9EE3A5934CAB9B7F2E5BA9F8.f01t01>

Objective: To analyze the circadian rhythm maturation of temperature, activity and sleep during the first year of life in offspring of diabetic mothers (ODM) and its relationship with obesity markers.

Methods: A prospective analysis of the children of 63 pregnant women (23 controls, 21 gestational diabetes mellitus (GDM) controlled with diet and 19 GDM with insulin).

Fetal abdominal circumference was evaluated ecographically during gestation. Skin temperature and rest-activity rhythms were monitored for 3 consecutive days in children at 15 days and 1, 3 and 6 months. Anthropometrical parameters of the children were evaluated during the first year of life.

Results: Children from the GDM groups tended to higher fetal abdominal circumference z-score than controls at the beginning of the last trimester ($p=0.077$) and at delivery ($p=0.078$). Mean skin temperature or activity was not different among the groups. The I<O sleep index pointed to increasing concordance with parental sleeping at 3 and 6 months but no significant GDM-dependent differences. However, some of the parameters that define temperature maturation and also the circadian function index from the temperature-activity variable were significantly lower at 6 months in the GDM+insulin group. Fetal abdominal circumference z-score, as a predictor of fetal adiposity, correlated negatively with parameters related to circadian rhythm maturation as the circadian/ultradian rhythm (P_1/P_{ult} ratio).

Conclusions: Fetal adiposity correlated with a worse circadian rhythm regulation in ODM. In addition, ODM insulin-treated showed a disturbed pattern of the circadian function index of temperature activity at 6 months of age.

3. IS LOW DOCOSAHEXAENOIC ACID ASSOCIATED WITH DISTURBED RHYTHMS AND NEURODEVELOPMENT IN OFFSPRING OF DIABETIC MOTHERS?

EUROPEAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION

[Epub, ahead of print]

Background/objective: to evaluate the relation between docosahexaenoic acid (DHA) status and neurodevelopment in the offspring of gestational diabetic mothers (ODM).

Subjects/methods: A prospective cohort study was performed. The offspring of 63 pregnant women (23 controls, 21 diet-controlled GDM and 19 insulin-treated GDM) were

recruited. Maternal and venous cord plasma DHA percentages were analyzed. Skin temperature and activity in children were recorded for 72 h at 3 and 6 months of life. Neurodevelopment was assessed using the Bayley Scale of infant Development II (BSID II) at 6 and 12 months of age.

Results: Cord plasma DHA percentage was significantly lower in the ODM than on the controls (Control 6.43 [5.04-7.82]^a; GDM+diet 5.65 [4.44-6.86]^{ab}; GDM+insulin 5.53 [4.45-6.61]^b). Both mental (Control 102.71 [97.61-107.81]^a; GDM+diet 100.39 [91.43-109.35]^a; GDM+insulin 93.94 [88.31-99.57]^b) and psychomotor (Control 91.52 [81.82-101.22]^a; GDM+diet 81.67 [73.95-89.39]^b; GDM+insulin 81.89 [71.96-91.85]^b) scores evaluated by the BSID II were significantly lower at 6 months in ODM, even after adjusting for confounding factors such as breastfeeding, maternal educational level and gender. Cord plasma DHA percentage correlated with the psychomotor score from BSID II ($r = 0.27$; $P = 0.049$) and with the intradaily variability (IV) in activity ($r = -0.24$; $P = 0.043$) at 6 months. Maternal DHA was correlated with several sleep rhythm maturation parameters at 6 months.

Conclusions: Lower DHA levels in cord plasma of ODM could affect their neurodevelopment. Maternal DHA status was also associated with higher values in the sleep rhythm maturation parameters of children.

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULOS

EXPERIMENTALES

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo general de esta tesis doctoral se ha centrado en conocer si el desarrollo psicomotor y la maduración de los ritmos circadianos de los niños pueden estar influidos por la presencia de diabetes gestacional materna. Además se plantearon una serie de objetivos específicos cuyos resultados pasamos a discutir.

1. MADURACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

La primera cuestión planteada para esta tesis era comprobar cómo ocurre la maduración de ritmos circadianos de temperatura periférica y actividad durante los primeros 6 meses de vida en una muestra piloto de niños en condiciones ambulatorias, con métodos de medición inalámbrica. Este estudio piloto se expone dentro del artículo publicado en la revista *Chronobiology International* como capítulo experimental 1.

Tal y como pudimos comprobar en dicho estudio, la temperatura periférica y la actividad a los 15 días y 1 mes de edad sigue un patrón ultradiano para ambas variables, sin diferencias significativas entre el día y la noche, produciéndose un cambio a un patrón circadiano a los 3-6 meses de edad (Figuras 2 del capítulo experimental 1 y 1 del capítulo experimental 2). A partir de este momento, la temperatura periférica muestra valores más elevados durante la noche, coincidiendo con la menor actividad motora, con un pico secundario en la tarde, al igual que se ha descrito para adultos (Sarabia *et al.*, 2008). Estos hallazgos concuerdan con lo publicado en trabajos previos, los cuales indican una ausencia de patrón circadiano al nacimiento y en los primeros meses de vida; Lodmore *et al.* (1992) describieron la maduración del ritmo de temperatura corporal central entre las 7^a y 16^a semanas de vida, con una media a las 11 semanas, mientras que Brown *et al.* (1992) apreciaban esta maduración desde la 12^a semana de vida, o Pringuey *et al.* (2009), la situaron en torno al 3^{er} mes de vida. Estos datos son similares a los de la maduración del ritmo sueño-vigilia indicado por algunos autores alrededor de los 3 meses de edad (McMillen *et al.*, 1991; Mirmiran *et al.*, 2003). En nuestro estudio el ritmo circadiano de la temperatura parece madurar algo antes que el ritmo de sueño. En niños prematuros, la ritmicidad del sueño al nacimiento parece tratarse de una respuesta al estrés que sufren

durante las primeras semanas de vida, mientras que el ritmo presente a los 6 meses de vida refleja de manera directa la competencia del sistema nervioso central (Borghese *et al.*, 1995).

La evaluación de la madurez de los ritmos se estableció teniendo en cuenta diferentes parámetros cronobiológicos, como son la variabilidad intradiaria, la cual indica la fragmentación del ritmo, la estabilidad interdiaria del ritmo entre los distintos días del registro y la amplitud relativa, o la diferencia entre los valores máximos y mínimos. A los 6 meses la mayor madurez del ritmo, tanto de temperatura como de actividad motora, se reflejó por una menor variabilidad intradiaria, es decir, un menor grado de fragmentación. Un aumento del grado de fragmentación también se observa en adultos con el envejecimiento y el desarrollo de trastornos neurológicos, tales como la enfermedad de Alzheimer y otros déficits cognitivos (Oosterman *et al.*, 2008). Además, la amplitud del ritmo sufrió un aumento significativo a los 6 meses para la temperatura y a los 3 meses para la actividad motora, respecto a edades previas. Con respecto a la estabilidad del ritmo a lo largo de los 3 días en que se realizó la medición, también hubo un incremento significativo de la misma a los 6 meses respecto a las mediciones previas. Todos estos hallazgos confirman que la maduración de los ritmos desde un patrón ultradiano a uno circadiano se completa entre los 3 y 6 meses de edad en los niños. La mayoría de estos parámetros de los ritmos circadianos presentan cambios significativos que se pueden detectar a partir de los 3 meses, aunque es a los 6 meses cuando éstos alcanzan un patrón circadiano más robusto, similar al de adultos jóvenes (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

La temperatura periférica muestra oscilaciones diarias, con un aumento de la misma por la noche y una disminución de ésta cuando el niño se despierta (Figuras 2 del capítulo experimental 1 y 1 del capítulo experimental 2). De noche se produce una vasodilatación periférica que incrementa la temperatura periférica, induciendo una caída en la temperatura central por la pérdida de calor por las extremidades (Baddock *et al.*, 2004; Sarabia *et al.*, 2008). Así pues, la temperatura periférica está correlacionada con la temperatura central, pero siguiendo un patrón inverso de ascenso y descenso, aunque es la temperatura periférica la que precede y, probablemente, induce los cambios en la temperatura central durante el período nocturno de sueño (Heraghty *et al.*, 2008; Lack *et al.*, 2008; Sarabia *et al.*, 2008). Todos estos cambios, descritos en estudios previos para el ritmo de temperatura

periférica, concuerdan con lo mostrado en la gráfica de la figura 2 del capítulo experimental 1. Los cambios en la temperatura periférica muestran pues una estrecha relación con el ciclo de sueño-vigilia en condiciones experimentales de laboratorio; un sujeto habitualmente cae dormido cuando la temperatura central está disminuyendo, y el final del período de sueño coincide con la fase de ascenso de la curva circadiana de temperatura (Sarabia *et al.*, 2008). Diversos estudios sugieren que la probabilidad de que el sujeto se encuentre dormido guarda una relación más estrecha con el pico de temperatura cutánea distal que con la mínima temperatura central (Cajochen *et al.*, 2000; Raymann *et al.*, 2007; Sarabia *et al.*, 2008; Van Someren, 2004; Weinert & Waterhouse, 2007). Sin embargo, el papel de la temperatura cutánea distal o proximal en la inducción del sueño es todavía materia de discusión.

Algunos autores han descrito que el ritmo de temperatura periférica puede encontrarse enmascarado por la temperatura ambiental, la actividad, la ingesta alimentaria, el colecho o la siesta. Sarabia *et al.* (2008) informaron que altas temperaturas ambientales, tales como las registradas en España en Agosto (superiores a 35°C), sólo enmascaran la temperatura periférica diurna, sin afectar a la nocturna. En nuestro estudio se contempló esta posibilidad, por lo que estos períodos calurosos fueron excluidos para minimizar los efectos de la temperatura ambiental. Baddock *et al.* (2004) informaron de diferencias significativas en la temperatura media rectal y cutánea en niños que comparten cama con sus padres con respecto a niños que comparten cama con otros niños. En este trabajo se valoró este dato como un posible factor de confusión, por lo que se advirtió a los padres que todos los niños durmieran en una cuna separada aunque fuese dentro del dormitorio paterno, sin compartir ninguna cama con sus padres, excluyendo así la posible influencia del colecho. Los ritmos circadianos podrían estar también influenciados por patologías tales como el reflujo gastroesofágico del lactante, por lo que, a fin de evitar estos posibles factores de confusión, se tomaron únicamente niños sanos sin ningún tipo de patología.

2. UTILIDAD DE LOS SENSORES DE TEMPERATURA PERIFÉRICA Y ACTIVIDAD MOTORA EN NIÑOS MENORES DE UN AÑO

Otro de los objetivos planteados inicialmente para esta tesis era conocer si los sensores inalámbricos de medición ambulatoria de temperatura y actividad existentes en el mercado para adultos podrían ser útiles como método de registro en niños menores de un año, cuestión también planteada en el estudio piloto publicado en *Chronobiology International* y reflejado dentro del capítulo experimental número 1.

En adultos existen estudios, en condiciones de laboratorio de sueño, sobre el uso de actigrafía sola (Oosterman *et al.*, 2009) o combinada con medición de temperatura (Raymann *et al.*, 2007), cuya utilidad y fiabilidad ha sido comprobada previamente mediante comparación con registros de sueño y polisomnografía. El uso de estos sensores de temperatura y actividad había sido validado posteriormente en adultos sanos jóvenes en condiciones ambulatorias, mediante comparación con registros de sueño (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010; Sarabia *et al.*, 2008), siendo propuesto como un método fiable para la evaluación de ritmos circadianos en adultos, así como para definir y seguir los efectos de la cronoterapia en sujetos dentro de una situación de normalidad (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010; Sarabia *et al.*, 2008).

La información disponible sobre medición de ritmos circadianos en población pediátrica, sobre todo en el primer año de vida, es mucho menor y con metodología muy diversa. Los primeros trabajos publicados sobre el tema estudian la regulación del ciclo sueño-vigilia con polisomnografía (Peirano *et al.*, 2003), considerada la técnica *gold standard* en la detección de sueño (Acebo *et al.*, 2005; McMillen *et al.*, 1991). Sin embargo, esta metodología requiere el ingreso hospitalario del niño, con las incomodidades asociadas para la familia. Ya en trabajos posteriores aparecen publicados resultados con metodología utilizada en adultos, como la actimetría, cuya utilidad en el primer año de vida se compara con la polisomnografía. El primer trabajo encontrado sobre el uso de actigrafía en niños es de Sadeh *et al.* (1996), en el que realizan mediciones en hijos de madre con GDM durante 24 horas en los primeros 3 días posteriores al nacimiento para valorar el patrón sueño-vigilia. So *et al.* (2005), en un trabajo con mediciones mensuales durante 3 días consecutivos en 26 niños a lo largo del primer año de vida, postulan que con su uso se

puede inferir el ciclo sueño-vigilia en niños, a pesar de las limitaciones de la actimetría en la detección de períodos de vigilia. Jenni *et al.* (2006) publicaron un estudio en el que se registró la actimetría durante 10 días consecutivos en 7 niños y sus respectivas madres a los 4, 6 y 12 meses de vida. En cuanto a la medición del ritmo de temperatura en niños, el nuestro es el primer trabajo que describe su utilización en población infantil. Hasta el momento el ritmo de temperatura había sido ampliamente registrado para evaluar el funcionamiento del sistema circadiano, utilizando registros continuos de temperatura rectal o cutánea (Brown *et al.*, 1992; Lodemore *et al.*, 1992), pero hasta ahora no se habían utilizado métodos inalámbricos.

En el trabajo publicado en *Chronobiology International*, dentro del capítulo experimental 1, se comprobó que la combinación de ambos sensores inalámbricos de medición de temperatura y actividad fue útil y más completa que cada uno por separado para realizar el registro de los ritmos circadianos en niños menores de 6 meses. En cuanto a las posibles pérdidas de datos, se comprobó que los calcetines que contenían los sensores se adaptaron correctamente a los pies de los niños, faltando únicamente los datos correspondientes al período del baño en el que se retiraban los sensores; esto se detectaba fácilmente por la comprobación de una caída significativa de la actividad motora y temperatura registradas. Esta fiabilidad permite realizar estudios en domicilio, manteniendo sus condiciones habituales de vida, y fuera del ámbito hospitalario. Después de una extensa revisión bibliográfica no se han encontrado estudios que hayan usado esta metodología inalámbrica combinada de temperatura y actividad en niños de tan corta edad.

3. PARA EL ESTUDIO DE LOS RITMOS CIRCADIANOS, ¿SON MÁS ÚTILES LOS TEST PARAMÉTRICOS O LOS NO PARAMÉTRICOS?

La utilización de los sensores de medición durante 3 días, con registros cada 10 minutos de temperatura y cada 2 minutos de actividad, proporciona una ingente cantidad de datos que han de ser procesados mediante complejos algoritmos matemáticos. Dentro de los métodos habituales para valorar estos ritmos tenemos dos opciones: los tests paramétricos, que son aquellos que se ajustan a una onda sinusoidal, y los no paramétricos, que son aquellos que no cumplen esta premisa. Cuando se estudió la maduración de los ritmos

circadianos en niños mediante tests no paramétricos se detectaron mayores diferencias que con los paramétricos, especialmente en la determinación de la estabilidad interdiaria y fragmentación del ritmo o variabilidad intradiaria. Si se comparan los tests no paramétricos con su equivalente paramétrico (media y mesor, amplitud relativa y amplitud, M_5 y acrofase, variabilidad intradiaria y $P_1/P_{\text{ultradiano}}$ o estabilidad interdiaria y vector de Rayleigh), aparecen más diferencias significativas para los tests no paramétricos a pesar del pequeño tamaño muestral del estudio piloto expuesto en el capítulo experimental 1. Estos resultados son acordes a los aportados por Ortiz-Tudela *et al.* (2010), Portaluppi *et al.* (2008) y Van Someren *et al.* (1999) que también han postulado que los tests no paramétricos son más adecuados para el estudio de los ritmos circadianos, tanto en niños como adultos. Por esta razón la evaluación de la maduración de ritmos circadianos en los trabajos posteriores al estudio piloto siempre se realizó usando los tests no paramétricos, como son la media, variabilidad intradiaria, estabilidad interdiaria y amplitud relativa. Además, en este trabajo también se propone la evaluación de ritmos de sueño en niños mediante índices de integración como son los índices I<O e índice de función circadiana (CFI), que combinan las variables de temperatura y actividad motora, tal y como proponen Ortiz-Tudela *et al.* (2010) para adultos, aportando una información más completa de la maduración del mismo.

El único test paramétrico que se mantiene dentro de los resultados son los datos correspondientes al $P_1/P_{\text{ultradiano}}$, que no es más que el cociente entre la potencia del ritmo circadiano (24 horas) y la potencia acumulada de los 12 primeros armónicos, a pesar de tener la estabilidad interdiaria (IS) como su correspondiente paramétrico. El motivo es que se trata de un cociente que explica de una manera bastante gráfica y comprensible la maduración del ritmo debido al aumento de la relación entre el la potencia de un ritmo circadiano respecto a los componentes ultradianos.

4. EFECTOS DE LA DIABETES GESTACIONAL EN LA ANTROPOMETRÍA DEL NIÑO

Los efectos de la GDM en el neonato son múltiples y a distintos niveles. Tal y como era de esperar, la edad gestacional de los neonatos del grupo control fue significativamente

mayor ($p < 0.0001$) que la de los grupos de diabetes, debido al protocolo ginecológico aplicado en nuestro hospital con mayor número de inducciones para evitar la macrosomía en hijos de madre diabética. Datos similares en cuanto a la edad gestacional se obtienen en el trabajo de Sells *et al.* (1994), aunque en este trabajo se compararon 109 hijos de madres con diabetes gestacional insulina-dependiente con 90 hijos de madre control, sin tener un grupo de diabetes gestacional tratada con dieta, como es nuestro caso. Otros trabajos como el de Yang *et al.* (2006) apuntan a una tasa significativamente mayor de partos prematuros en mujeres con diabetes gestacional que en población general ($p < 0.001$).

La GDM se ha asociado clásicamente con un mayor riesgo de macrosomía al nacimiento y en los últimos años se ha vinculado además con una mayor incidencia de obesidad, tanto en la época infantil como en la edad adulta (García Carrapato, 2003). En un análisis retrospectivo de las complicaciones de la diabetes gestacional y pregestacional en los 10 últimos años, Nagy *et al.* (2013) describieron un porcentaje del 25% de macrosomía entre hijos de madre diabética, a pesar de un correcto manejo de la misma. Bowers *et al.* (2013) describieron una mayor incidencia de macrosomía en hijos de madre con diabetes gestacional, excepto para la raza blanca no hispánica. Todas las pacientes de nuestro estudio son de raza blanca hispánica, salvo dos de ellas que son de raza negra hispana, una dentro del grupo control y otra dentro del grupo de diabéticas tratadas con dieta. A diferencia de los resultados aportados por los trabajos mencionados con anterioridad, en nuestro trabajo no se detectaron diferencias entre los distintos grupos en parámetros somatométricos postnatales, tales como el peso, longitud, IMC o índice cintura/cadera medidos a lo largo del primer año de vida. La explicación a este fenómeno puede ser doble, tanto debido al protocolo ginecológico de nuestro hospital, que precisamente pretende evitar esta complicación, como por el escaso tamaño muestral del estudio.

A pesar de no hallarse diferencias estadísticamente significativas en los parámetros somatométricos postnatales (Tabla 2 del capítulo experimental 2 y tabla 2 del capítulo experimental 3), sí se apreció una clara tendencia a una mayor circunferencia abdominal fetal, medido ecográficamente, tanto en el momento de reclutamiento de las madres al comienzo del último trimestre ($p = 0.077$), como en el momento del parto ($p = 0.078$) en los hijos de los grupos de madres con GDM. La circunferencia abdominal fetal se considera un buen predictor de macrosomía y un marcador de aumento de depósitos grasos en estos

niños (Schaefer-Graf *et al.*, 2005 & 2011). Aunque el IMC se ha establecido como el marcador de elección en la definición de obesidad en adultos, su potencial para evaluar y predecir obesidad en niños durante el primer año de vida no está claro (Wells *et al.*, 2007). Así pues, los niños de madres con GDM en nuestro estudio tendieron a presentar mayores valores de circunferencia abdominal fetal y, por tanto, mayores depósitos grasos, lo que podría potenciar la programación de la obesidad en estos niños en la etapa adulta.

Dentro de influencia de la GDM en la maduración de ritmos circadianos se ha querido estudiar la posible relación existente entre la circunferencia abdominal como marcador de macrosomía de hijos de madre con GDM, y los parámetros que definen estos ritmos circadianos, como queda explicado dentro del artículo del capítulo experimental 2 publicado en *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*. En nuestro estudio, un mayor z-score de circunferencia abdominal al inicio del tercer trimestre de gestación (en el momento del reclutamiento materno) se correlacionó con aquellos parámetros que mostraron una peor maduración de ritmo circadiano del niño, como son un menor $P_1/P_{\text{ultradiano}}$ de temperatura y de actividad o una menor media de sueño estimada a partir de la integración de temperatura-actividad a los 3 meses (Tabla 3 del capítulo experimental 2). El z-score de circunferencia abdominal medido nuevamente previo al parto presentó correlaciones negativas con la media de temperatura a los 3 meses, el cociente $P_1/P_{\text{ultradiano}}$ y la amplitud relativa (RA) de actividad a los 6 meses y con la variabilidad intradiaria y RA de sueño y el CFI a los 6 meses (Tabla 3 del capítulo experimental 2), todos ellos parámetros que indican la presencia de un ritmo circadiano más maduro. Todas estas correlaciones reforzarían la teoría de una peor maduración de los ritmos circadianos en los hijos de madre con GDM. Nuestros resultados van en la misma línea que los de Sadeh *et al.* (1996) que comunicaron correlaciones positivas entre mayores mediciones de pliegues abdominal y suprailíaco en recién nacidos de madres con GDM y menores porcentajes de sueño tranquilo.

Están surgiendo numerosas líneas de evidencia que unen defectos en la maduración circadiana con eventos negativos para la salud, por lo que creímos que podía resultar interesante investigar la relación entre la maduración de los ritmos circadianos en hijos de madre con GDM con otros marcadores de neurodesarrollo, desarrollado dentro del capítulo experimental 3. Para trabajos posteriores sería también interesante determinar si mejores marcadores antropométricos de obesidad, como puede ser la medición de pliegues

cutáneos, que permitieran un diagnóstico precoz y más preciso en población pediátrica, se relacionan con una peor maduración circadiana en este tipo de niños. Por lo tanto, es plausible que exista una programación de ritmos circadianos asociada a la obesidad en hijos de madre con GDM.

5. EFECTOS DE LA DIABETES GESTACIONAL EN LA MADURACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS

Existe muy poca información disponible sobre el efecto de la GDM en la maduración de ritmos circadianos de temperatura y actividad motora en niños durante el primer año de vida. Durante el embarazo, Robertson y colaboradores, describieron una alteración de la actividad motora cíclica fetal a comienzos del tercer trimestre en los embarazos complicados con GDM, pero estos efectos desaparecieron al final de la gestación (Robertson, 1988; Robertson & Dierker, 1986). Robertson & Dierker (2003) postularon que los cambios en la actividad motora cíclica fetal probablemente reflejarían una sensibilidad a corto plazo de las fluctuaciones del ambiente metabólico en la GDM, más que un desarrollo alterado, pero sugirieron valorar otros aspectos del desarrollo psicomotor a largo plazo. Sadeh *et al.* (1996) no encontraron diferencias relacionadas con la GDM en los patrones de sueño-vigilia de neonatos con registros de actigrafía de 24 horas durante las primeras 72 horas de vida. Sin embargo, se sabe que tras el nacimiento la mayoría de las funciones no presentan todavía un ritmo circadiano (Heraghty *et al.*, 2008), por lo que son necesarios estudios sobre la maduración de estos ritmos en edades posteriores.

En el capítulo experimental 2, se describe como el ritmo de temperatura mostró una mayor variabilidad intradiaria, o fragmentación del ritmo, y menor amplitud relativa (RA) a los 6 meses en el grupo de hijos de madre con GDM tratada con insulina (Tabla 2 del citado trabajo). Estos cambios indican una más rápida maduración de los ritmos circadianos en los controles respecto al grupo de GDM tratada con insulina, debido a una menor fragmentación del ritmo de temperatura, lo que se explica por esos menores valores de variabilidad intradiaria (IV) en los controles, y una mayor diferencia entre el día y la noche, que se refleja en una mayor amplitud relativa (RA) de los mismos. Además, los sujetos

controles también presentaron un mayor cociente circadiano/ultradiano (cociente $P_1/P_{\text{ultradiano}}$) de temperatura a los 6 meses, lo que indica un ritmo más próximo al ritmo circadiano de 24 horas típico de adultos. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las medias de temperatura periférica y actividad motora asociadas al hecho de que la madre haya sufrido GDM (Figuras 2A y 2B del capítulo experimental 2 y 2 del capítulo experimental 3). Los valores medios de una onda podrían verse compensados por puntuaciones contrapuestas durante el día y la noche, como parece ocurrir para la temperatura periférica o la actividad motora.

La maduración del ritmo de sueño se estimó utilizando conjuntamente temperatura y actividad (variable TA), y también se encontró un aumento estadísticamente significativo para la variabilidad interdiaria (IV) a los 6 meses en el grupo de GDM tratada con insulina (Tabla 2 del capítulo experimental 2), lo que indicaría asimismo una mayor fragmentación del sueño en el grupo de hijos de madre con GDM tratada con insulina, sin que se apreciaran diferencias estadísticamente significativas para el resto de parámetros de actividad y sueño estimado a partir de temperatura-actividad entre los distintos grupos. Cuando los parámetros que definen la maduración del ritmo se integraron además en el índice de función circadiana (CFI) de la variable temperatura-actividad, se detectó un retraso estadísticamente significativo en la función circadiana a los 6 meses en el grupo de GDM tratada con insulina respecto a los otros dos grupos (Figura 2 del capítulo experimental 2), incluso con un tamaño muestral tan limitado como el del estudio. Esta alteración del índice CFI de la variable temperatura-actividad a los 6 meses en el hijo de madre con GDM tratada con insulina estaría indicando una peor maduración de los ritmos circadianos en este grupo de niños, la cual se puede apreciar ya como una tendencia desde los 3 meses de edad (Figura 2 del capítulo experimental 2).

El índice I<O determina la concordancia del sueño nocturno de los niños con el período estándar de sueño de los adultos (desde las 23:00 h a las 07:00 h) y, como era de esperar, mostró un aumento en la concordancia según aumentaba la edad de los niños. En el estudio preliminar descrito en el capítulo experimental 1 se aprecia un aumento estadísticamente significativo del índice I<O a los 6 meses con respecto a determinaciones previas (Figura 4 del citado capítulo); al aumentar el tamaño muestral en los siguientes trabajos la aparición de estas diferencias estadísticamente significativas se adelantó a los 3

meses de edad. Aunque Sadeh *et al.* (1996) no encontraron efectos de la GDM sobre los ritmos de sueño-vigilia en neonatos durante sus primeras 72 horas de vida, sí que detectaron correlaciones entre unos valores aumentados de glucosa materna y una disminución del porcentaje de sueño para los controles y menores transiciones de sueño, así como unos segmentos de sueño más largos para el grupo de GDM. Estos resultados y nuestras investigaciones apoyan un efecto adverso de la GDM en los ritmos de temperatura y actividad del niño, aunque las consecuencias de éstos en el desarrollo posterior del niño están aún por determinar.

6. EFECTOS DE LA DIABETES GESTACIONAL EN EL DESARROLLO NEUROLÓGICO

En los últimos años, distintos trabajos han evaluado el efecto de la GDM en el neurodesarrollo infantil, describiéndose de manera llamativa un retraso en algunas áreas del desarrollo intelectual y del comportamiento. Georgieff (2006) realizó un seguimiento a hijos de GDM durante los 3 primeros años de vida, hallando peores datos en la memoria de reconocimiento en hijos de madre con GDM que en niños controles. Krakowiak *et al.* (2012) describieron además un mayor riesgo de autismo (OR = 1.52 [95% IC = 0.82-2.83]) y de trastornos del desarrollo (OR = 2.33 [95% IC = 1.08-5.05]) en niños de entre 2 y 4 años hijos de madre con diabetes gestacional o diabetes mellitus tipo II. Además, en aquellos niños sin autismo, Nomura *et al.* (2012) describieron un riesgo de presentar trastorno por déficit de atención e hiperactividad dos veces mayor en hijos de madre con GDM y bajo nivel socioeconómico que en población general a la edad de 6 años, así como un menor cociente intelectual, peor lenguaje y funcionamiento emocional y un comportamiento más empobrecido. Otros trabajos, como el de García Carrapato (2003) también describen un desarrollo neurológico y un comportamiento alterados en este tipo de pacientes, sin llegar a realizar mediciones con escalas de desarrollo psicomotor.

En nuestro trabajo se valoró la relación entre la GDM materna y el desarrollo psicomotor en sus hijos, medido a través de la 2ª versión de la Escala de Bayley de Desarrollo Infantil (BSID II). Como muestra la figura 1 del capítulo experimental 3, teniendo en cuenta las puntuaciones del BSID II ajustadas por factores de confusión como

son edad gestacional, sexo, nivel educacional materno, semanas de lactancia materna exclusiva, hemoglobina glicosilada (HbA1c) materna o IMC materno en el momento del parto, el grupo de hijos de madre con GDM tratada con insulina presentaron un índice mental de desarrollo (MDI) significativamente menor a los 6 meses con respecto a los otros dos grupos ($p = 0.001$), diferencia que no se mantuvo a los 12 meses de edad ($p = 0.301$), aunque mostró la misma tendencia de peor evolución de los resultados del BSID II con la GDM. Con respecto al índice motor de desarrollo (PDI) a los 6 meses, ambos grupos de hijos de madre con GDM presentaron una puntuación significativamente menor a los controles ($p = 0.002$), aunque estas diferencias entre los grupos tampoco se mantuvieron a los 12 meses de edad ($p = 0.640$). A pesar de no llegar a tener significación estadística, encontramos una tendencia a mayores MDI y PDI en el grupo de controles con respecto a los grupos de hijos de madre con GDM a los 12 meses, edad a la que el BSID II es más fiable. Estudios previos que utilizaron también el BSID para la evaluación del desarrollo psicomotor, como los trabajos de Nelson *et al.* (2000), con 34 controles y 26 hijos de madre diabética, y Deregnier *et al.* (2000), que compararon 32 controles con 25 hijos de madre diabética, no detectaron diferencias estadísticamente significativas entre grupo control e hijos de madre con GDM ni en PDI ni MDI a los 12 meses de vida. Rizzo *et al.* (1995) tampoco llegaron a encontrar diferencias entre los distintos grupos utilizando el BSID a los 2 años, aunque sí a los 4 años utilizando la escala de inteligencia de Stanford-Binet.

La evaluación del desarrollo psicomotor durante el primer año de vida es complicada, ya que nos encontramos con una serie de limitaciones en los tests existentes actualmente, tanto en el BSID II como en otras escalas de neurodesarrollo, ya que fueron diseñados para identificar niños con un desarrollo psicomotor por debajo de la normalidad, demostrando mayores dificultades a la hora de valorar niños normales (Un & Carlson, 2003). A esto hay que sumar el que, a pesar de que el uso del BSID II esté validado desde el primer año de vida (Bayley, 1993), se conoce su baja fiabilidad y reproducibilidad a edades tan tempranas, dada la gran cantidad de factores externos que pueden influir, como el sueño o el hambre, mejorando su rendimiento a partir del segundo año de vida. Esta problemática es aún mayor para la evaluación de la esfera cognitiva, lo que hemos detectado en una ausencia de correlación estadísticamente significativa entre los valores del MDI de 6 y 12 meses ($R = 0.26$, $p = 0.06$); sin embargo, sí que se detectaron correlaciones

entre los valores de PDI en las distintas edades ($R = 0.621$, $p < 0.001$). Esto es debido probablemente a que el desarrollo durante el primer año de vida es mucho más evidente desde el punto de vista motor y, por tanto, más fácil de valorar que el aspecto mental. A pesar de esto, ambos índices (PDI y MDI) se correlacionaron entre ellos tanto a los 6 ($R = 0.390$, $p = 0.003$) como a los 12 meses ($R = 0.409$, $p = 0.002$). La mayoría de trabajos que utilizan el BSID II, lo hacen a partir del primer año de vida (Deregnier *et al.*, 2000; Voight *et al.*, 2002) o, incluso, a partir del segundo (Rizzo *et al.*, 1995, 1994 & 1991), aunque sí que existen estudios como el nuestro que lo utilizan ya desde edades tempranas como son los 5 y 6 meses (Agostini *et al.*, 2003; Fang *et al.*, 2005). El motivo de realizar una evaluación tan temprana del desarrollo psicomotor se debe a un intento hacer coincidir en el tiempo esta primera medición clásica de neurodesarrollo con la última de ritmos circadianos de los 6 meses.

Estas limitaciones en los tests clásicos de desarrollo neurológico ponen de manifiesto que es de máximo interés encontrar nuevos marcadores de neurodesarrollo en niños menores de un año, que nos permitan clasificarlos dentro de la normalidad de la manera más fiable y precoz posible. Dado que los ritmos circadianos se controlan a través de estructuras del sistema nervioso y la regulación de los mismos se produce durante los primeros meses de vida, como ya se ha postulado anteriormente, la maduración del sistema circadiano podría constituir un parámetro útil para la valoración del desarrollo neurológico en niños durante el primer año de vida.

En nuestro trabajo, la medición clásica de desarrollo psicomotor se realizó mediante el BSID II a los 6 y 12 meses de edad, para que estuviese relativamente próxima a la valoración de los ritmos circadianos. Dentro de los índices obtenidos, se detectó una mejor correlación entre el PDI y ritmos circadianos, sobre todo en cuanto a parámetros de actividad se refiere. Existe una correlación positiva entre el PDI a los 6 meses y la media de actividad a los 1 ($R = 0.287$, $p = 0.045$), 3 ($R = 0.512$, $p < 0.001$) y 6 meses ($R = 0.286$, $p = 0.038$), correlación que se mantiene además entre el PDI de los 12 meses y la media de actividad a los 1 ($R = 0.284$, $p = 0.045$) y 3 meses ($R = 0.369$, $p = 0.005$), aunque no con la media de los 6 meses. Por lo tanto, niños con mejores puntuaciones motoras en el BSID II son niños con un mejor ritmo de actividad motora, lo cual sería lógico de pensar, ya que ambas son mediciones de la actividad motora del niño. Se detectó una correlación entre el

PDI de los 12 meses y el CFI (o índice integrado de función circadiana) de los 3 meses de edad ($R = 0.264$, $p = 0.049$), y similar tendencia con el CFI de los 6 meses ($R = 0.234$, $p = 0.096$), aunque sin significación estadística probablemente debido al escaso tamaño muestral. La conclusión que podemos extraer de todo esto es que aquellos niños con mejores puntuaciones motoras son niños que también presentan una mejor función circadiana.

El MDI, en cambio, tuvo peores correlaciones con los ritmos circadianos, tanto a los 6 como a los 12 meses, con correlaciones débiles con la media de sueño y actividad a edades muy tempranas (Correlación de MDI a los 6 meses con la media de actividad al mes $R = 0.319$, $p = 0.025$ y con la media de sueño al mes $R = 0.313$, $p = 0.029$; correlación de MDI a los 12 meses con la media de actividad a los 3 meses $R = 0.325$, $p = 0.015$ y la media de sueño a los 15 días $R = 0.294$, $p = 0.040$ y al mes $R = 0.489$, $p < 0.001$), pero que no se mantienen en mediciones posteriores de los ritmos circadianos. Esto se podría explicar, como ya se ha comentado previamente, por la dificultad en la evaluación de la esfera cognitiva en niños de tan corta edad y de ahí su peor correlación con los ritmos circadianos. No existe en la literatura estudios publicados previamente que correlacionen la maduración de ritmos circadianos con escalas clásicas de neurodesarrollo con los cuales poder comparar los resultados obtenidos en este trabajo.

7. EL TIPO DE ALIMENTACIÓN DEL NIÑO COMO FACTOR DE CONFUSIÓN EN EL NEURODESARROLLO

La lactancia materna es un factor que debe ser tenido en cuenta dentro del análisis estadístico de los datos, ya que podría ser considerada como un factor de confusión dentro la valoración del neurodesarrollo en estos niños; por este motivo, el análisis estadístico de los datos se ajustó, entre otras variables referidas previamente, por las semanas de duración de lactancia materna exclusiva. De hecho, la duración de la lactancia materna en los distintos grupos de nuestro trabajo fue desigual, los niños del grupo control recibieron lactancia materna durante un período significativamente mayor que los hijos de madre con GDM, tanto de manera exclusiva ($p = 0.014$) como de manera combinada con lactancia artificial ($p = 0.021$).

Los estudios existentes sobre lactancia materna muestran efectos positivos sobre el desarrollo neurológico y la inteligencia en niños alimentados de esta manera (Jain *et al.*, 2002; Temboury *et al.*, 1994). Por el contrario, estudios restringidos a niños alimentados con lactancia materna de madres con GDM muestran que la ingesta de leche materna de estas mujeres (con un contenido disminuido en LC-PUFA y aumentado en glucosa e insulina) durante la primera semana del período neonatal presenta un impacto negativo en el comienzo del lenguaje, un importante predictor del desarrollo cognitivo, sin comprobar ningún efecto al tomar mayor cantidad de la misma sobre el desarrollo psicomotor en el período neonatal tardío, evaluado mediante la Escala de Desarrollo de Denver (Plagemman *et al.*, 2005; Rodekamp *et al.*, 2006). No obstante, sólo pudimos encontrar en nuestro estudio una escasa correlación entre la duración de la lactancia materna y la puntuación obtenida en el BSID II, como test clásico de neurodesarrollo; únicamente apareció una correlación débil ($R = 0.280$, $p = 0.035$) entre las semanas de lactancia materna exclusiva y la puntuación del PDI a los 6 meses, lo que no se mantiene en las mediciones realizadas a los 12 meses de edad, tampoco para el MDI ni para la duración de lactancia materna combinada con lactancia artificial. No se detectó ninguna correlación entre la duración de la lactancia materna y los distintos parámetros evaluados de maduración de los ritmos circadianos.

8. EFECTOS DE LA GDM EN EL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS Y SU RELACIÓN CON EL NEURODESARROLLO

Como ya se ha comentado en la introducción, el mecanismo último que ocasiona una afectación del desarrollo psicomotor en hijos de madre con GDM no está claro (García Carrapato, 2003; Georgieff, 2006; Larqué *et al.*, 2002). Entre los mecanismos afectados por la GDM podría encontrarse una inadecuada transferencia transplacentaria de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA). En estudios realizados previamente sobre el perfil de ácidos grasos en mujeres con GDM y sus hijos, se comprobó una disminución de niveles de DHA y LC-PUFA en hijos de madre con GDM, a pesar de porcentajes en plasma materno normales (Min *et al.*, 2005; Wijendran *et al.*, 2000). Ya que los LC-PUFA se acumulan en cantidades importantes en la retina y el sistema nervioso central, un aporte

prenatal inadecuado podría afectar al desarrollo neurológico de los niños. No obstante, no está claro si los niveles de DHA permanecen bajos durante el primer año de vida o son sólo bajos en las determinaciones perinatales. Winkler *et al.* (2008) encontraron que el contenido de DHA en la membrana celular del eritrocito de los hijos nacidos de madres con diabetes tipo I fue similar a los 3 meses con respecto al nacimiento, pero a los 12 meses los niveles de DHA observados fueron algo menores.

En la tabla 1 del capítulo experimental 3, publicado en la revista *European Journal of Clinical Nutrition*, mostramos que el grupo de niños de madres con GDM tenía concentraciones de DHA en sangre de cordón significativamente más bajas que el grupo control ($p = 0.029$), a pesar de que las madres con GDM tratadas con dieta tenían niveles de DHA en el suero materno significativamente mayores en el reclutamiento ($p = 0.025$) y el parto ($p = 0.020$) que los controles. La ingesta de pescado, tanto de manera global como de pescado azul, fue similar entre los tres grupos, por lo que no explicaría los bajos niveles de DHA en hijos de madre con GDM. Además, los niños que se encontraban en el cuartil inferior de DHA en sangre de cordón presentaron un PDI significativamente menor a los 6 meses que aquellos que se encontraban en el cuartil superior (83.44 ± 2.64 frente a 91.57 ± 2.95 , $p = 0.049$).

En la figura 3 del capítulo experimental 3 se muestra además como se correlacionan el DHA de sangre de cordón con la puntuación del PDI a los 6 meses de edad ($R = 0.270$, $p = 0.049$), incluso ajustando por edad gestacional, sexo, nivel educacional materno, semanas de lactancia materna exclusiva, HbA1c materna o IMC materno en el momento del parto. El hecho de que no se encontraron más correlaciones podría ser debido al escaso tamaño muestral o, quizás, a que estas escalas clásicas de valoración de neurodesarrollo no son las idóneas para la detección de alteraciones en el desarrollo psicomotor a edades tan tempranas. El cálculo del tamaño muestral en esta tesis se realizó en base a intentar encontrar diferencias en los niveles de DHA de sangre de cordón entre los tres grupos. Además, no existen estudios previos que hayan utilizado esta metodología de medición de ritmos circadianos a edades tan tempranas, para poder realizar un cálculo del tamaño muestral en base a los mismos. En cualquier caso, la potencia estadística alcanzada en nuestro estudio fue del 61% a los 6 meses para el índice de función circadiana (CFI) y para el BSID II del 85% a los 6 meses y del 35% a los 12 meses. La asociación del DHA con la

actividad motora (PDI del BSID II también se confirmó por la correlación inversa entre el porcentaje de DHA en sangre de cordón con los valores de variabilidad intradiaria de la actividad a los 6 meses ($R = -0.239$, $p = 0.043$), tal como se muestra en la figura 3 del capítulo experimental 3. Esta variable también evalúa la faceta motriz del desarrollo del niño y confirma la asociación entre mayores niveles de DHA y un ritmo circadiano de actividad más maduro, refutando las teorías previas que asocian LC-PUFAs y neurodesarrollo. Así pues nuestros resultados parecen confirmar la hipótesis inicial de una posible relación entre unos niveles menores de DHA en los hijos de madre con GDM y un peor desarrollo psicomotor de los mismos. Sería interesante como objetivo a largo plazo valorar nuevamente a estos niños a edades posteriores en los que los tests psicológicos serían más fiables y reproducibles, para comprobar si se mantienen las relaciones del DHA con estas funciones neurológicas del niño.

El presente trabajo de investigación es muy novedoso, ya que, tras una extensa búsqueda bibliográfica, no se encontró literatura sobre la relación entre el perfil de LC-PUFA en sangre de cordón y los ritmos circadianos. Existe algún estudio, como el de Faglioli *et al.* (1989), que relaciona el aporte de ácidos grasos esenciales en niños sometidos a nutrición parenteral durante períodos de 2-6 meses con la modulación del sueño en estos niños. Cheruku *et al.* (2002) describieron mayores niveles de DHA en plasma materno durante el embarazo asociado con patrones neonatales de sueño más maduros en los hijos de estas gestantes. En el presente estudio evaluamos también la relación entre los niveles DHA en sangre materna, tanto en el momento del reclutamiento como en el del parto, con la maduración de los ritmos circadianos del niño (Tabla 3 del capítulo experimental 3). El DHA materno también se correlacionó con un mejor ritmo de sueño del niño a los 6 meses (debido a una menor variabilidad interdiaria y mayores valores de estabilidad intradiaria y CFD), así como una correlación positiva con una estabilidad interdiaria de temperatura a los 6 meses, valores todos ellos ajustados por edad gestacional, sexo, nivel educacional materno, semanas de lactancia materna exclusiva, HbA1c materna o IMC materno en el momento del parto, tomados como posibles factores de confusión. Estos datos señalan, como los de Cheruku *et al.* (2002), que mayores concentraciones en plasma materno de DHA se asocian a la existencia de una mejor maduración de los

patrones circadianos, aunque los datos de tal estudio se refieren a mediciones muy precoces de sueño infantil, en el segundo día de vida.

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



CONCLUSIONES

1. Los sensores utilizados para el registro de la temperatura y actividad son útiles para la medición de los ritmos circadianos de temperatura periférica y actividad motora en niños menores de un año de manera domiciliaria. Los tests más adecuados para evaluar la maduración de los ritmos circadianos en niños son los test no paramétricos.
2. La aparición de los ritmos circadianos de temperatura periférica y actividad motora, así como de sueño estimado a partir la integración de ambas variables, se produce en los niños a partir de los 3 meses de edad, con una mayor madurez a los 6 meses de edad.
3. La diabetes gestacional materna afecta a la evolución de los ritmos circadianos de sus hijos durante los primeros 6 meses de vida. El ritmo de temperatura y sueño en los hijos de madres con diabetes gestacional tratadas con insulina mostró una mayor variabilidad intradiaria, o fragmentación del ritmo, así como una peor maduración de sus ritmos circadianos, evaluada mediante el índice de función circadiana (CFI). Esto apoya un efecto adverso de la diabetes gestacional sobre el desarrollo de los ritmos circadianos del niño.
4. La adiposidad fetal, estimada ecográficamente durante el embarazo como medida de los depósitos grasos fetales, se correlacionó con una peor regulación de los ritmos circadianos durante los 6 primeros meses de vida. La programación de la obesidad en los niños podría pues afectar además a la maduración de los ritmos circadianos tras el nacimiento.
5. Los hijos de madre con diabetes gestacional presentaban a los 6 meses menores puntuaciones, tanto de capacidad motora como mental, en el test de Bayley, pero estas diferencias no se mantuvieron a los 12 meses, probablemente por el reducido número de sujetos de esta muestra. Estos resultados estarían en concordancia con un peor neurodesarrollo en hijos de madres descrito por numerosos autores.

6. Los niños con mejores puntuaciones motoras en el test de Bayley son niños que también presentaron una mejor función circadiana, tal como muestran las asociaciones repetitivas del índice psicomotor del Bayley con la media de actividad y el índice integrado de función circadiana de temperatura y actividad durante los primeros 6 meses de vida. Así pues, la actividad motora evaluada mediante actimetría podría ser un buen marcador precoz del desarrollo psicomotor aunque esto necesitaría ser corroborado en estudios con más sujetos.

7. Los menores valores de DHA en sangre de cordón en los hijos de madres con diabetes gestacional, tanto tratadas con dieta como con insulina, podrían explicar en parte el peor neurodesarrollo observado en los hijos de madre con diabetes gestacional. El porcentaje de DHA en sangre de cordón se asoció de forma directa tanto con la puntuación motora del test de Bayley, como con parámetros de fragmentación del ritmo de actividad a los 6 meses de vida del niño, por lo que sería interesante mejorar los niveles de DHA en estos niños.

CONSIDERACIONES GENERALES

Los sensores de temperatura y las técnicas de actimetría para la medición inalámbrica de ritmos circadianos son una herramienta de gran utilidad para la evaluación precoz de neurodesarrollo en niños. Sería interesante realizar estudios futuros para comprobar su utilidad en la detección precoz de alteraciones neurológicas en población infantil.

La relación entre los bajos niveles de DHA en hijos de madre con diabetes gestacional y el neurodesarrollo, medido a través de escalas clásicas o de ritmos circadianos, son hallazgos interesantes para continuar investigando sobre la posible implicación de la nutrición materna durante el embarazo en la programación del desarrollo neurológico de sus hijos. La alimentación del niño durante el primer año de vida también podría contribuir a la mejora de la función neurológica de los niños por lo que se necesitarían nuevos estudios para valorar posibles estrategias nutricionales a seguir en hijos de madres con diabetes gestacional.

INTRODUCCIÓN

OBJETIVOS

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULOS
EXPERIMENTALES

DISCUSIÓN GENERAL

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA GENERAL



BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Acebo C, Sadeh A, Seifer R, Tzischinsky O, Hafer A, Carskadon MA. Sleep/wake patterns derived from activity monitoring and maternal report for healthy 1- to 5-year-old children. *Sleep*. 2005; 28(12): 1568-1577.
- Agostini C, Verduci E, Masetto N, Radaelli G, Riva E, Giovannini M. Plasma long-chain polyunsaturated fatty acids and neurodevelopment through the first 12 months of life in phenylketonuria. *Dev Med Child Neurol*. 2003; 45(4): 257-261.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2011. *Diabetes Care*. 2011; 34 Suppl 1: S11-S61.
- Anderson RE. Lipids of ocular tissues. IV. A comparison of the phospholipids from the retina of six mammalian species. *Exp Eye Res*. 1970; 10(2): 339-344.
- Areas R, Duarte L, Menna-Barreto L. Comparative análisis of rhythmic parameters of the body temperature in humans measured with thermistors and digital thermometers. *Biol Rhythm Res*. 2006; 37(5): 419-424.
- Auestad N, Scott DT, Janowsky JS, Jacobsen C, Carroll RE, Montalto MB *et al*. Visual, cognitive, and language assessments at 39 months: A follow-up study of children fed formulas containing long-chain polyunsaturated fatty acids to 1 year of age. *Pediatrics*. 2003; 112(3 Pt 1): e177-183.
- Baddock SA, Galland BC, Beckers MG, Taylor BJ, Bolton DP. Bed-sharing and the infant's thermal environment in the home setting. *Arch Dis Child*. 2004; 89(12): 1111-1116.
- Bayley N. Bayley Scale of Infant Development Manual. 2nd ed. San Antonio, TX: Psychological Corporation, Harcourt Brace and Co; 1993.
- Beckwith L, Parmelee AH. EEG patterns of preterm infants, home environment, and later IQ. *Child Dev*. 1986; 57(3): 777-789.
- Beyerlein A, Hadders-Algra M, Kennedy K, Fewtrell M, Singhal A, Rosenfeld E *et al*. Infant formula supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids has no

- effect on Bayley development scores at 18 months of age – IPD meta-analysis of 4 large clinical trials. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010; 50(1): 79-84.
- Birch EE, Hoffman DR, Uauy R, Birch DG, Prestidge C. Visual acuity and the essentiality of docosahexaenoic acid and arachidonic acid in the diet of term infants. *Pediatr Res.* 1998; 44(2): 201-209.
- Borghese IF, Minard KL, Thoman EB. Sleep rhythmicity in premature infants: implications for development status. *Sleep.* 1995; 18(7): 523-530.
- Bouwstra H, Dijck-Brouwer DA, Wildema JA, Tjoonk HM, Van der Heide JC, Boersma ER *et al.* Long-chain polyunsaturated fatty acids have a positive effect on the quality of general movements of healthy term infants. *Am J Clin Nutr.* 2003; 78(2): 313-318.
- Bowers K, Laughon SK, Kiely M, Brite J, Chen Z, Zhang C. Gestational diabetes, pre-pregnancy obesity and pregnancy weight gain in relation to excess fetal growth: variations by race/ethnicity. *Diabetologia.* 2013; 56(6): 1236-1271.
- Brinciotti M, Matricardi M, Colatrella A, Torcia F, Fallucca F, Napoli A. Effects of maternal diabetes on visual evoked potentials and early psychomotor development of the offspring. *Diabetes Care.* 2007; 30(1): e128.
- Bromiker R, Rachamim A, Hammerman C, Schimmel M, Kaplan M, Medoff-Cooper B. Immature sucking patterns in infants of mothers with diabetes. *J Pediatr.* 2006; 149(5): 640-643.
- Brown PJ, Dove RA, Tuffnell CS, Ford RP. Oscillations of body temperature at night. *Arch Dis Child.* 1992; 67(19):1255-1258.
- Cajochen C, Brunner DP, Kräuchi K, Graw P, Wirz-Justice A. EEG and subjective sleepiness during extended wakefulness in seasonal affective disorder: circadian and homeostatic influences. *Biol Psychiatry.* 2000; 47(7):610-617.
- Campos M, Marín-Morales R, Madrid JA, Rol MA, Sosa J, Sosa M *et al.* Circadianware. Spain Patent 08/2010/183. 8 March, 2010.
- Carrascosa Lezcanoa A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández A, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejo A, Copil Copil A *et al.* Spanish cross-sectional growth study

2008. Part I: Weight and height values in newborns of 26-42 weeks of gestacional age. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68(6): 544-551.
- Carrascosa Lezcano A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández A, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejo A, Copil Copil A *et al*. Spanish cross-sectional growth study 2008. Part II: Weight, height and body mass index values from birth to adult height. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68(6): 552-569.
- Carlson SE. Behavioural methods used in the study of long-chain polyunsaturated fatty acid nutrition in primate infants. *Am J Clin Nutr*. 2000; 71(1 Suppl): 268S-274S.
- Carlson SE, Cooke RJ, Rhodes PG, Peeples JM, Werkman SH, Tolley EA. Long-term feeding of formulas high in linolenic acid and marine oil to very low birth weight infants: phospholipid fatty acids. *Pediatr Res*. 1991; 30(5): 404-412.
- Carrascosa Lexcano A, Ferrández Longás A, Yeste Fernández A, García-Dihinx Villanova J, Romo Montejo A, Copil Copil A *et al*. Spanish cross-sectional growth study 2008. Part I: Weight and height values in newborns of 26-42 weeks of gestacional age. *An Pediatr (Barc)*. 2008; 68(6): 544-551.
- Carvalho-Bos SS, Riemersma-Van der Lek RF, Waterhous J, Reilly T, Van Someren EJW. Strong association of the rest-activity rhythms with well-being in demented elderly women. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2007; 15(2): 92-100.
- Cermakian N, Boivin DB. The regulation of central and peripheral circadian clocks in humans. *Obes Rev*. 2009; 10 Suppl 2: 25-36.
- Cheruku SR, Montgomery-Downs HE, Farkas SL, Thomam EB, Lammi-Keefe CJ. Higher maternal plasma docosahexanoic acid during pregnancy is associated with more mature neonatal sleep-state patterning. *Am J Clin Nutr*. 2002; 76(3): 608-613.
- Clandinin MT. Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid. *Lipids*. 1999; 34(2):131-137.
- Clandinin MT, Jumpsen J, Suh M. Relationship between fatty acid accretion, membrane composition, and biological functions. *J Pediatr*. 1994; 125(5 Pt 2):S25-S32.
- Clandinin MT, Chappell JE, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Fatty acid utilization in perinatal de novo synthesis of tissues. *Early Hum Dev*. 1981; 5(4): 355-366.

- Clandinin MT, Chappel JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum Dev.* 1980; 4(2):121-129.
- Coleman RA. The role of the placenta in lipid metabolism and transport. *Semin Perinatol.* 1989; 13(3): 180-191.
- Colombo J, Kannass KN, Shaddy DJ, Kundurthi S, Maikranz JM, Anderson CJ *et al.* Maternal DHA and the development of attention in infancy and toddlerhood. *Child Dev.* 2004; 75(4):1254-1267.
- Crawford M. Placental delivery of arachidonic and docosahexaenoic acids: implications for the lipid nutrition of preterm infants. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(1 Suppl): 275S-284S.
- De Sere day MS, Damiano MM, González CD, Bennet PH. Diagnostic criteria for gestational diabetes in relation to pregnancy outcome. *J Diabetes Complications.* 2003; 17(3): 115-119.
- Deboer T. Technologies of sleep research. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 64(10): 1227-1235.
- Deregnier RA, Nelson CA, Thomas KM, Wewerka S, Georgieff MK. Neuroohysiologic evaluation of auditory recognition memory un healthy newborn infants and infants of diabetic mothers. *J Pediatr,* 2000; 137(6): 777-784.
- Díez-Noguera A. Representación gráfica y análisis de datos en Cronobiología. In: Madrid JA, Rol MA (eds). *Cronobiología Básica y Clínica.* Madrid: Editec@red SL; 2006. p. 102-107.
- Dobbing J, Sands J. Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Hum Dev.* 1979; 3(1):79-83.
- Dutta-Roy AK. Transport of fatty acids across the human placenta: a review. *Prog Lipid Res.* 2008; 48(1):52-61.
- Dutta-Roy AK. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(1 Suppl): 315S-322S.

- Eickmann SH, De Lira PI, Lima MdeC, Countinho SB, Teixeira MdeL, Ashworth A. Breast feeding and mental and motor development at 12 months in a low-income population in northeast Brazil. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2007; 21(2): 129-137.
- Fang PC, Kuo HK, Huang CB, Ko TY, Chen CC, Chung MY. The effect of supplementation of docosahexaenoic acid and arachidonic acid on visual acuity and neurodevelopment in larger preterm infants. *Chang Gung Med J.* 2005; 28(10): 708-715.
- Folch J, Lees M, Stanley GHS. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem,* 1958; 226(1): 497-509.
- Freudigman KA, Thoman EB. Infant sleep during the first postnatal day: an opportunity for assessment of vulnerability. *Pediatrics.* 1993; 92(3): 373-379.
- Garaulet M, Ordovás JM, Madrid JA. The chronobiology, etiology and pathophysiology of obesity. *Int J Obes (Lond).* 2010; 34(12):1667-1683.
- García Carrapato MR. The offspring of gestational diabetes. *J Perinat Med.* 2003; 31(1): 5-11.
- Georgieff MK. The effect of maternal diabetes during pregnancy on neurodevelopment of offspring. *Minn Med.* 2006; 89(3): 44-47.
- Gertner S, Greenbaum CW, Sadeh A, Dolfin Z, Sirota L, Ben-Nun Y. Sleep-wake patterns in preterm infants and 6 month's home environment: implications for early cognitive development. *Early Hum Dev.* 2002; 68(2): 93-102.
- González-Quintero VH, Istwan NB, Rhea DJ, Rodríguez LI, Cotter A, Carter J *et al.* The impact of glycemic control on neonatal outcome in singleton pregnancies complicated by gestational diabetes. *Diabetes Care.* 2007; 30(3): 467-470.
- Grupo Español de Diabetes y Embarazo (GEDE). Guía asistencial de diabetes mellitus y embarazo. *Av Diabetol.* 2006; 22; 73-87.

- H** Nagy K, Pomucz J, Varga R, Szabó E, Soltész G. Anthropometric data, fetal and neonatal complications in infants of diabetic mothers. Results of a 10-year retrospective study. *Orv Hetil.* 2013; 154(5): 172-177.
- Haffen E. Measuring circadian rhythms. *Encephale.* 2009; 35(Suppl 2):S63-S67.
- Haggarty P, Ashton J, Joynson M, Abramovich DR, Page K. Effect of maternal polyunsaturated fatty acid concentration on transport by the human placenta. *Biol Neonate.* 1999; 75(6): 350-359.
- Hanebutt FL, Demmelmair H, Schiessl B, Larqué E, Koletzko B. Long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) transfer across the placenta. *Clin Nutr.* 2008; 27(5): 685-693.
- Helland IB, Smith L, Saarem K, Saugstad OD, Drevon CA. Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics.* 2003; 111(1): e39-e44.
- Helland IB, Saugstad OD, Smith L, Saarem K, Solvoll K, Ganes T *et al.* Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women. *Pediatrics.* 2001; 108(5): e82.
- Heraghty JL, Hihliard TN, Henderson AJ, Fleming PJ. The physiology of sleep in infants. *Arch Dis Child.* 2008; 93(11): 982-985.
- Hibbeln JR, Davis JM, Steer C, Emmett P, Rogers I, Williams C *et al.* Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study. *Lancet.* 2007; 369(9561): 578-585.
- Hoffman DR, Birch EE, Birch DG, Uayuy R, Castañeda YS, Lapus MG *et al.* Impact of early dietary intake and blood lipid composition of long-chain polyunsaturated fatty acids on later visual development. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2000; 31(5): 540-553.
- Huang YL, Liu RY, Wang QS, Van Someren EJW, Xu H, Zhou JN. Age-associated difference in circadian sleep-wake and rest-activity rhythms. *Physiol Behav.* 2002; 76(4-5): 597-603.
- I**nnis SM. Dietary (n-3) fatty acids and brain development. *J Nutr.* 2007; 137(4):855-859.

- J**ain A, Concato J, Leventhal JM. How good is the evidence linking breastfeeding and intelligence? *Pediatrics*. 2002; 109(6): 1044-1053.
- Jenni OG, Deboer T, Achermann P. Development of the 24-h rest-activity pattern in human infants. *Infant Behav Dev*. 2006; 29(2): 143-152.
- K**eim SA, Daniels JL, Siega-Riz AM, Herring AH, Dole N, Scheidt PC. Breastfeeding and long-chain polyunsaturated fatty acid intake in the first 4 post-natal months and infant cognitive development: an observational study. *Matern Child Nutr*. 2012; 8(4):471-482.
- Kennaway DJ. Programming of the fetal suprachiasmatic nucleus and subsequent adult rhythmicity. *Trends Endocrinol Metab*. 2002; 13(9): 398-402.
- Kishimoto Y, Agranoff BW, Radin NS, Burton RM. Comparison of the fatty acids of lipids subcellular brain fractions. *J Neurochem*. 1969; 16(3): 397-404.
- Kohyama J. Sleep as a window on the developing brain. *Curr Probl Pediatr*. 1998; 28(3): 69-92.
- Koletzko B, Larqué E, Demmelmair H. Placental transfer of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). *J Perinat Med*. 2007; 35(Suppl 1): S5-S11.
- Koletzko B, Agostoni C, Carlson SE, Clandinin T, Hornstra G, Neuringer M *et al*. Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. *Acta Paediatr*. 2001; 90(4): 460-464.
- Koletzko B, Braun M. Arachidonic acid and early human growth: is there a relation? *Ann Nutr Metab*. 1991; 35(3): 128-131.
- Krakowiak P, Walker CK, Bremer AA, Baker AS, Ozonoff S, Hansen RL *et al*. *Pediatrics*. 2012; 129(5): e1121-e1128.
- Kuti MA, Abbiyesuku FM, Akinlade KS, Akinosum OM, Adedapo KS, Adeleye JO *et al*. Oral glucose tolerance testing outcomes among women at high risk for gestational diabetes mellitus. *J Clin Pathol*. 2011; 64(8): 718-721.

- Lack LC, Gradisar M, Van Someren EJW, Wright HR, Lushington K. The relationship between insomnia and body temperatures. *Sleep Med Rev.* 2008; 12(4): 307-317.
- Larqué E, Gil-Sánchez A, Prieto-Sánchez MT, Koletzko B. Omega 3 fatty acids, gestation and pregnancy outcomes. *Br J Nutr.* 2012; 107 Suppl 2: S77-S84.
- Larqué E, Demmelmair H, Gil-Sánchez A, Prieto-Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A *et al.* Placental transfer of fatty acids and fetal implications. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(6 Suppl): 1908S-1913S.
- Larqué E, García-Ruíz PA, Pérez-Llamas F, Zamora S, Gil A. Dietary trans fatty acids alter the compositions of microsomes and mitochondria and the activities of microsomal delta6-fatty acid desaturase and glucose-6-phosphatase in livers of pregnant rats. *J Nutr.* 2003; 133(8): 2526-2531.
- Larqué E, Demmelmair H, Koletzko B. Perinatal supply and metabolism of long-chain polyunsaturated fatty acids: importance for the early development of the nervous system. *Ann N Y Acad Sci.* 2002; 967: 299-310.
- Lauritzen L, Hansen HS, Jorgensen MH, Michaelsen KF. The essentiality of n-3 long chain fatty acids in relation to development and function of the brain and retina. *Prog Lipid Res.* 2001;40(1-2):1-94.
- Lodemore MR, Petersen SA, Wailoo MP. Factors affecting the development of night time temperature rhythms. *Arch Dis Child.* 1992; 67(10): 1259-1261.
- Makrides M, Neumann MA, Byard RW, Simmer K, Gibson RA. Fatty acid composition of brain, retina, and erythrocytes in breast- and formula-fed infants. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60(2):189-194.
- Martínez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. *J Pediatr.* 1992; 120(4 Pt 2):S129-S138.
- Martínez M, Ballabriga A, Gil-Gibernau JJ. Lipids of the developing human retina: I. Total fatty acids, plasmalogens, and fatty acid composition of ethanolamine and choline phosphoglycerides. *J Neurosci Res.* 1988; 20(4): 484-490.

- McMillen IC, Kok JSM, Adamson TM, Deayton JM, Nowak R. Development of circadian sleep-wake rhythms in preterm and full-term infants. *Pediatr Res.* 1991; 29(4 Pt 1): 381-384.
- Min Y, Lowy C, Ghebremeskel K, Thomas B, Offley-Shore B, Crawford M. Unfavorable effect of type 1 and type 2 diabetes on maternal and fetal essential fatty acid status: a potential marker of fetal insulin resistance. *Am J Clin Nutr.* 2005; 82(6):1162-1168.
- Min Y, Ghebremeskel K, Lowy C, Thomas B, Crawford MA. Adverse effect of obesity on red cell membrane arachidonic and docosahexanoic acids in gestational diabetes. *Diabetologia.* 2004; 47(1): 75-81.
- Minors D, Akerstedt T, Atkinson G, Dahliz M, Folkard S, Levi F, Mormont C, Parkes D, Waterhouse J. The difference between activity when in bed and out of bed. I. Healthy subjects and selected patients. *Chronobiol Int.* 1996; 13(1): 27-34.
- Mirmiran M, Maas YGH, Ariango RL. Development of fetal and neonatal sleep and circadian rhythms. *Sleep Med Rev.* 2003; 7(4): 321-334.
- Mora F, Sanguinetti AM. *Diccionario de neurociencias.* Madrid: Alianza editorial; 2004. p. 150.
- Mortola JP. Hypoxia and circadian patterns. *Respir Physiol Neurobiol.* 2007; 158(2-3): 274-279.
- Nelson CA, Wewerka S, Thomas KM, Tribby-Walbridge S, DeRegnier R, Georgieff M. Neurocognitive sequelae of infants of diabetic mothers. *Behav Neurosci.* 2000; 114(5): 950-956.
- Neuringer M. Infant vision and retinal function in studies of dietary long-chain polyunsaturated fatty acids: methods, results and implications. *Am J Clin Nutr.* 2000; 71(1 Suppl): 256S-267S.
- Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr.* 1988; 8: 517-541.
- Nomura Y, Marks DJ, Grossman B, Yoon M, Loudon H, Stone J *et al.* Exposure to gestational diabetes mellitus and low socioeconomic status: effects on

- neurocognitive development and risk of attention-deficit/hyperactivity disorder in offspring. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2012; 166(4): 337-343.
- O'Sullivan JB, Mahan CM, Charles D, Dandrow RV. Screening criteria for high-risk gestational diabetic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 1973; 116(7): 895-900.
- Oosterman JM, Van Someren EJW, Vogels RLC, Van Harten B, Scherder EJA. Fragmentation of the rest-activity rhythms correlates with age-related cognitive deficits. *J Sleep Res.* 2009; 18(1): 129-135.
- Ornoy A, Ratzon N, Greenbaum C, Wolf A, Dulitzky M. School-age children born to diabetic mothers and to mothers with gestational diabetes exhibit a high rate of inattention and fine and gross motor impairment. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2001; 14(Suppl 1): 681-689.
- Ortiz-Tudela E, Martinez-Nicolas A, Campos M, Rol MA, Madrid JA. A New Integrated Variable Based on Thermometry, Actimetry and Body Position (TAP) to Evaluate Circadian System Status in Humans. *PLoS Comput Biol.* 2010; 11;6(11): e1000996.
- Peirano P, Algarín C, Uauy R. Sleep-wake status and their regulatory mechanisms throughout early human development. *J Pediatr.* 2003; 143(4 Suppl): S70-S79.
- Pembrey MS. Observations upon the deep and surface temperature of the human body. *J Physiol.* 1898; 23(5): 386-406.
- Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Fahrenkrog S, Rodekamp E, Franke K *et al.* Impact of early neonatal breast-feeding on psychomotor and neuropsychological development in children of diabetic mothers. *Diabetes Care.* 2005; 28(3): 573-578.
- Portaluppi F, Somlensky MH, Touitou Y. Ethics and methods for biological rhythm research on animals and human beings. *Chronobiol Int.* 2010; 27(9-10): 1911-1929.
- Portaluppi F, Touitou Y, Somlensky MH. Ethical and methodological standards for laboratory and medical biological rhythm research. *Chronobiol Int.* 2008; 25(6): 999-1016.
- Pringuey D, Tible O, Cherikh F. Ontogenesis of circadian rhythms in the human. *Encephale.* 2009; 35(Suppl 2): S46-S52.

- Qawasmi A, Landeros-Weisenberger A, Bloch MH. Meta-analysis of LCPUFA supplementation of infant formula and visual acuity. *Pediatrics*. 2013; 131(1):e262-e272.
- Qawasmi A, Landeros-Weisenberger A, Leckman JF, Bloch MH. Meta-analysis of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of formula and infant cognition. *Pediatrics*. 2012; 129(6):1141-1149.
- Raymann RJ, Swaab DF, Van Someren EJ. Skin temperature and sleep-onset latency: changes with age and insomnia. *Physiol Behav*. 2007; 90(2-3): 257-266.
- Rivkees SA. Developing circadian rhythmicity in infants. *Pediatric Endocrinol Rev*. 2003; 1(1): 38-45.
- Rizzo TA, Dooley SL, Metzger BE, Cho NH, Ogata ES, Silverman BL. Prenatal and perinatal influences on long-term psychomotor development in offspring of diabetic mothers. *Am J Obstet Gynecol*. 1995; 173(6): 1753-1758.
- Rizzo TA, Ogata ES, Dooley SL, Metzger BE, Cho NH. Perinatal complications and cognitive development in 2- to 5-year-old children of diabetic mothers. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 171(3): 706-713.
- Rizzo T, Metzger BE, Burns WJ, Burns K. Correlations between antepartum maternal metabolism and intelligence of offspring. *N Eng J Med*. 1991; 325(13): 911-916.
- Robertson SS, Dierker LJ. Fetal cyclic motor activity in diabetic pregnancies: sensitivity to maternal blood glucose. *Dev Psychobiol*. 2003; 42(1): 9-16.
- Robertson SS. Infants of diabetic mothers: late normalization of fetal cyclic motility persists after birth. *Dev Psychobiol*. 1988; 21(5): 477-490.
- Robertson SS, Dierker LJ. The development of cyclic motility in fetuses of diabetic mothers. *Dev Psychobiol* 1986; 19(3): 223-234.
- Rodekamp E, Harder T, Kohlholff R, Dudenhausen JW, Plagemann A. Impact of breastfeeding on psychomotor and neuropsychological development in children of diabetic mothers: role of the late neonatal period. *J Perinat Med*. 2006; 34(6): 490-496.

- Rol MA, Sánchez-Férez JA, Ordóñez M. Técnicas de estudio en el sistema circadiano. In: Madrid JA, Rol MA (eds). *Cronobiología Básica y Clínica*. Madrid: Editec@red SL; 2006. pp. 124-150.
- Rump P, Mensik RP, Kester AD, Hornstra G. Essential fatty acid composition of plasma phospholipids and birth weight: a study in term neonates. *Am J Clin Nutr*. 2001; 73(4): 797-806.
- Sadeh A, Acebo C. The role of actigraphy in sleep medicine. *Sleep Med Rev*. 2002; 6(2): 113-124.
- Sadeh A, Dark I, Vohr BR. Newborns' sleep-wake patterns: the role of maternal, delivery and infant factors. *Early Hum Dev*. 1996; 44(2): 113-126.
- Sadeh A, Hauri PJ, Kripke DF, Lavie P. The role of actigraphy in the evaluation of sleep disorders. *Sleep*. 1995; 18(4): 288-302.
- Sarabia JA, Rol MA, Mendiola P, Madrid JA. Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects. A candidate of new index of the circadian system. *Physiol. Behav*. 2008; 95(4): 570-580.
- Sastry PS. Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog Lipid Res*. 1985; 24(2): 69-176.
- Schaefer-Graf UM, Wendt L, Sacks DA, Kilavuz Ö, Gaber B, Metzner S *et al*. How many sonograms are needed to reliably predict the absence of fetal overgrowth in gestational diabetes mellitus pregnancies? *Diabetes Care*. 2011; 34(1): 39-43.
- Schaefer-Graf UM, Pawliczak J, Passow D, Hartmann R, Rossi R, Bühner C *et al*. Birth weight and parental BMI predict overweight in children from mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care*. 2005; 28(7): 1745-1750.
- Scher A. Infant sleep at 10 months of age as a window to cognitive development. *Early Hum Dev*. 2005; 81(3): 289-292.
- Schneider H. The role of placenta in nutrition of the human fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 1991; 164(4): 967-973.
- Schulzke SM, Patole SK, Simmer K. Long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011; 16(2):CD000375.

- Sellmayer A, Koletzko B. Long-chain polyunsaturated fatty acids and eicosanoids in infants—physiological and pathophysiological aspects and open questions. *Lipids*. 1999; 34(2): 199-205.
- Sells CJ, Robinson NM, Brown Z, Knopp RH. Long-term developmental follow-up of infants of diabetic mothers. *J Pediatr*. 1994; 125(1): S9-S17.
- Serón-Ferré M, Torres C, Parraguez VH, Vergara M, Valladares L, Forcelledo ML *et al*. Perinatal neuroendocrine regulation. Development of the circadian time-keeping system. *Mol Cell Endocrinol*. 2002; 186(2): 169-173.
- Shuman CR, Spratt IL. Office guide to diagnosis and classification of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes Care*. 1981; 4(2): 335.
- Simmer K, Patole SK, Rao SC. Longchain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants born at term. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008; 23(1): CD000376.
- So K, Adamson TM, Horne RSC. The use of actigraphy for assessment of the development of sleep/wake patterns in infants during the first 12 months of life. *J Sleep Res*. 2007; 16(2): 181-187.
- So K, Buckley P, Adamson TM, Horne RS. Actigraphy correctly predicts sleep behaviour in infants who are younger than 6 months, when compared with polysomnography. *Pediatr Res*. 2005; 58(4): 761-765.
- Sobngwi E, Boudou P, Mauvais-Jarvis F, Leblanc H, Velho G, Vexiau P *et al*. Effect of a diabetic environment in utero on predisposition to type 2 diabetes. *Lancet*. 2003; 361(9372): 1861-1865.
- Soderberg M, Edlund C, Kristensson K, Dallner G. Fatty acid composition of brain phospholipids in aging and in Alzheimer's disease. *Lipids*. 1991; 26(6): 421-425.
- Su HM, Huang MC, Saad NM, Nathanielsz PW, Brenna JT. Fetal baboons convert 18:3n-3 to 22:6n-3 in vivo. A stable isotope tracer study. *J Lipid Res*. 2001; 42(4): 581-586.
- Suzuki R, Watanabe S, Hirai Y, Akiyama K, Nishide T, Matsushima Y *et al*. Abdominal wall fat index, estimated by ultrasonography, for assessment of the ratio of visceral fat to subcutaneous fat in the abdomen. *Am J Med*. 1993; 95(3): 309-314.

Tantanasis T, Daniilidis A, Giannoulis C, Tzafettas M, Dinas K, Loufopoulos A *et al.*

Sonographic assessment of fetal subcutaneous fat tissue thickness as an indicator of gestational diabetes. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010; 152(2): 157-162.

Temboury MC, Otero A, Polanco I, Arribas E. Influence of breast-feeding on the infant's intellectual development. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1994; 18(1): 32-36.

Thomas CR. Placental transfer of non-esterified fatty acids in normal and diabetic pregnancy. *Biol Neonate.* 1987; 51(2): 94-101.

Tobias DK, Hu FB, Forman JP, Chavarro J, Zhang C. Increased risk of hypertension after gestational diabetes mellitus: Findings from a large prospective cohort study. *Diabetes Care.* 2011; 34(7): 1582-1584.

Uauy RD, Hoffman DR, Peirano P, Birch DG, Birch EE. Essential fatty acids in visual and brain development. *Lipids.* 2001; 36(9): 885-895.

Uauy RD, Mena P, Valenzuela A. Essential fatty acids as determinants of lipid requirements in infants, children and adults. *Eur J Clin Nutr.* 1999; 53 Suppl 1: S66-S77.

Un S, Carlson SE. Long chain fatty acids in the developing retina and brain. In: Polin R, Fox W (eds). *Fetal and Neonatal Physiology*, 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 2003. pp. 429-440.

Van Houwelingen AC, Puls J, Hornstra G. Essential fatty acid status during early human development. *Early Hum Dev.* 1992; 31(2): 97-111.

Van Kuijk FJ, Buck P. Fatty acid composition of the human macula and peripheral retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1992; 33(13): 3493-3496.

Van Marken Lichtenbelt WD, Daanen HA, Wouters L, Fronczek R, Raymenn RJ, Severens NM *et al.* Evaluation of wireless determination of skin temperature using iButtons. *Physiol Behav.* 2006; 88(4-5): 489-497.

Van Someren EJ. Sleep propensity is modulated by circadian and behaviour-induced changes in cutaneous temperature. *J Therm Biol.* 2006; 29: 437-444.

Van Someren EJ. Thermoregulation as sleep signaling system. *Sleep Med Rev.* 2004; 8(4): 327.

Van Someren EJW, Swaab DF, Colenda CC, Cohen W, McCall WV, Rosenquist PB. Bright light therapy: improved sensitivity to its effects on rest-activity rhythms in Alzheimer patients by application of non-parametric methods. *Chronobiol Int.* 1999; 16(4): 505-518.

Verier-Mine O. Outcomes in women with a history of gestational diabetes. Screening and prevention of type 2 diabetes. Literature review. *Diabetes Metab.* 2010; 36(6 Pt 2): 595-616.

Voight RG, Jensen CL, Fraley JK, Rozelle JC, Brown FR 3rd, Heird WC. Relationship between omega3 long-chain polyunsaturated fatty acid status during early infancy and neurodevelopmental status at 1 year of age. *J Hum Nutr Diet.* 2002; 15(2): 111-120.

Weinert D, Waterhouse J. The circadian rhythm of core temperature: effects of physical activity and aging. *Physiol Behav.* 2007; 90(2-3): 246-256.

Wells JC, Chomtho S, Fewtrell MS. Programming of body composition by early growth and nutrition. *Proc Nutr Soc.* 2007; 66(3): 423-434.

Whitney MP, Thoman EB. Early sleep patterns of premature infants are differentially related to later developmental disabilities. *J Dev Behav Pediatr.* 1993; 14(2): 71-80.

Wijendran V, Bendel RB, Couch SC, Philipson EH, Cheruku S, Lammi-Keefe CJ. Fetal erythrocyte phospholipid polyunsaturated fatty acids are altered in pregnancy complicated with gestational diabetes mellitus. *Lipids.* 2000; 35(8): 927-931.

Williams JR. The Declaration of Helsinki and public health. *Bull World Health Organ.* 2008; 86(8): 650-652.

Yang J, Cummings EA, O'Connell C, Jangaard K. Fetal and neonatal outcomes of diabetic pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2006; 108(3 Pt 1): 644-650.

Young HB, Buckley AE, Hamza B, Mandarano C. Milk and lactation: some social and developmental correlates among 1000 infants. *Pediatrics.* 1982; 69(2): 169-175.

- Zhang C, Ning Y. Effect of dietary and lifestyle factors on the risk of gestational diabetes: review of epidemiologic evidence. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(6 Suppl): 1975S-1979S.
- Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Carrión V, Alcántara-López MV, Madrid JA, López-Soler C *et al.* Is low docosahexaenoic acid associated with disturbed rhythms and neurodevelopment in offspring of diabetic mothers?. *Eur J Clin Nutr.* 2014. Aceptado pendiente de publicación.
- Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Prieto-Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A Rol MA *et al.* Influence of gestational diabetes on circadian rhythms of children and their association with fetal adiposity. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013; 29:483-491.
- Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Sánchez-Solís M, Rol MA, Larqué E, Madrid JA. Assessment of circadian rhythms of both skin temperature and motor activity in infants during the first 6 months of life. *Chronobiol Int.* 2011; 28(4): 330-337.
- Zornoza Moreno M, Fuentes Hernández S, Alcántara López MV, López Soler C, Rol de Lama MA, Madrid Pérez JA *et al.* Evaluación de los ritmos circadianos de actividad y temperatura en niños durante el primer año de vida y su uso potencial como marcadores precoces del desarrollo psicomotor. En: Libro de Comunicaciones: 60 Congreso de la Asociación Española de Pediatría. Valladolid; 2011. p.32.
- Zornoza Moreno M, Prieto Sánchez MT, Blanco Carnero JE, Pagán A, Fuentes Hernández S, Sánchez-Solís de Querol M *et al.* Efectos de la diabetes gestacional maternal en los porcentajes de ácidos grasos en neonatos y sus repercusiones clínicas y bioquímicas. En: Libro de Comunicaciones: 60 Congreso de la Asociación Española de Pediatría. Valladolid; 2011. p.97.



ANEXOS

ANEXOS

ANEXO I. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA RESULTANTE DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS:

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Sánchez-Solís M, Rol MA, Larqué E, Madrid JA. Assessment of circadian rhythms of both skin temperature and motor activity in infants during the first 6 months of life. *Chronobiol Int.* 2011; 28(4): 330–337.

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Prieto Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A, Rol MA, Parrilla JJ, Madrid JA, Sánchez-Solís M, Larqué E. Influence of gestacional diabetes on children's circadian rhythms and their association with fetal adiposity. *Diabetes Metab Res Rev.* 2013; 29(6): 483–491.

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Carrión V, Alcántara-López MV, Madrid JA, López-Soler C, Sánchez-Solís M, Larqué E. Is low docosaheptaenoic acid associated with disturbed rhythms and neurodevelopment in offspring of diabetic mothers?. *Eur J Clin Nutr.* 2014. [Epub, ahead of print].

CONTRIBUCIONES A CONGRESOS:

Zornoza Moreno M, Prieto Sánchez MT, Blanco Carnero JE, Pagán A, Fuentes Hernández S, Sánchez-Solís de Querol M. *et al.* Efectos de la diabetes gestacional materna en los porcentajes de ácidos grasos en los neonatos y sus repercusiones clínicas y bioquímicas. 2011. Póster en el “60 Congreso de la Asociación Española de Pediatría”, Valladolid (España). Premio a la Mejor Comunicación Libre sobre Neonatología.

Zornoza Moreno M, Fuentes Hernández S, Alcántara López MV, López Soler C, Rol de Lama MA, Madrid Pérez JA *et al.* Evaluación de los ritmos circadianos de actividad y temperatura en niños durante el 1^{er} año de vida y su uso potencial como marcadores precoces del desarrollo psicomotor. 2011. Póster en el “60 Congreso de la Asociación Española de Pediatría”, Valladolid (España).

Zornoza Moreno M, Fuentes S, Alcántara MV, Castro M, López C, Madrid JA *et al.* Influence of gestational diabetes in children’s circadian rhythms of both temperature and activity during the first 6 months of age and potential using as markers of psychomotor development. 2012. Póster en el “Update 2012 de la European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition”, Estocolmo (Suecia).

Zornoza Moreno M, Fuentes Hernández S, Prieto Sánchez MT, Blanco JE, Pagán A, Parrilla JJ *et al.* Influence of gestational diabetes on children’s circadian rhythms and their association with both fetal adiposity and n-3 fatty acids. 2013. Póster en el “IUNS 20th International Congress of Nutrition”, Granada (España).

Zornoza-Moreno M, Fuentes-Hernández S, Carrión V, Alcántara-López MV, Prieto-Sánchez MT, Blanco JE, *et al.* Does fatty acid status in offspring of diabetic mothers have influence on neurodevelopment during the first year of life?. 2013. Comunicación oral en el “Young Scientists Competition en el Nutrimenthe International Conference”, Granada (España).

ANEXO II. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA RESULTANTE DE COLABORACIONES

CONTRIBUCIONES A CONGRESOS:

Sarabia JA, **Zornoza M**, Fuentes S, Tudela R, Mondéjar MT, Larqué E *et al.* Development of peripheral skin temperature circadian rhythmicity in human. 2009. Póster en el “XXXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas”, Valencia (España).

Prieto Sánchez MT, Blanco Carnero JE, Pagán Bernabéu A, **Zornoza Moreno M**, Parrilla Paricio JJ, Larqué Daza E. Efectos de la diabetes mellitus gestacional en los porcentajes de ácidos grasos, repercusiones clínicas y bioquímicas en los neonatos. 2013. Póster electrónico en el “XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia”, Tenerife (España).

ANEXO III. PROYECTOS FINANCIADORES DE LA PRESENTE TESIS DOCTORAL

Transferencia de ácidos grasos en embarazadas con diabetes gestacional y beneficios en el neonato. Proyecto desarrollado mediante contrato firmado con la empresa HERO S.L. a través de la OTRI de la Universidad de Murcia. Investigador principal: Elvira Larqué Daza.

